



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Ravelly Lucena Santos**

**Caracterização tecnológica, físico-química, impressão digital e comportamento biológico de drogas vegetais obtidas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. e *Abelmoschus esculentus* Linn**

**Recife  
2018**

**Ravelly Lucena Santos**

**Caracterização tecnológica, físico-química, impressão digital e comportamento biológico de drogas vegetais obtidas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. e *Abelmoschus esculentus* Linn**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas- Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo

Recife

2018

Catálogo na fonte:  
bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4:1895

S231c Santos, Ravelly Lucena.  
Caracterização tecnológica, físico-química, impressão digital e comportamento biológico de drogas vegetais obtidas de *mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. e *abelmoschus esculentus* Linn / Ravelly Lucena Santos. – Recife: o autor, 2018.  
99 f.; il.; 30 cm.

Orientador: Rui Oliveira Macêdo.  
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.  
Inclui referências.

1. Plantas. 2. Alta temperatura. 3. Pirólise. 4. Hemólise. I. Macêdo, Rui Oliveira (orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2018 - 205)

**Ravely Lucena Santos**

**Caracterização tecnológica, físico-química, impressão digital e comportamento biológico de drogas vegetais obtidas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. e *Abelmoschus esculentus* Linn**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2018.

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. Felipe Hugo Alencar Fernandes (Examinador Externo)  
Unifacisa - Centro Universitário

Prof. Dr. Ionaldo Jose Lima Diniz Basilio (Examinador Externo)  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley (Examinador Interno)  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Leila Bastos Leal (Examinadora Interna)  
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo (Orientador)  
Universidade Federal da Paraíba

**A DEUS**, pela graça de me dar a vida e da conclusão desta pós-graduação, e por sua infinita misericórdia em toda minha caminhada.

**AOS MEUS PAIS**, por ensinar-me os caminhos do Senhor e pelos seus exemplos de força e garra, por investir nos meus estudos e sempre acreditarem na minha capacidade de conquistar meus objetivos.

**A MINHA IRMÃ**, pela sua ajuda prestada e seu apoio sempre que precisei.

**AO MEU ESPOSO**, por sempre acreditar na minha capacidade e me incentivar a sempre lutar pela realização dos meus sonhos acadêmicos e pessoais e por todo o seu amor, dedicação, carinho, compreensão e companheirismo.

**A MINHA FILHA**, que veio para me ensinar muita coisa e se tornou o melhor presente que Deus poderia ter me dado.

**AOS MEUS AVÓS**, maternos (*in memoriam*) e paternos, por terem confiado no meu potencial e terem me incentivado a lutar pelos meus sonhos.

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me concedido a vida, por me dar discernimento e determinação na busca dos meus objetivos e da realização dos meus sonhos.

A minha família, por acreditar na minha capacidade, me estimular e me proporcionar um bom estudo.

Ao meu esposo George, pelo estímulo oferecido em todas as horas do meu curso, principalmente nos momentos difíceis de desenvolvimento de projetos e por me fazer acreditar que sou capaz de alcançar os meus objetivos e a toda a sua família.

Ao meu orientador, Professor Doutor Rui Oliveira Macedo, pela oportunidade de aprendizado.

A Professora Doutora Ana Cláudia Dantas de Medeiros, pela oportunidade de aprendizado, por sua dedicação, confiança, paciência, incentivo, ensinamentos e pela amizade construída.

Ao professor Doutor Reinaldo Nobrega de Almeida, a Renan Marinho Braga e aos demais integrantes do Laboratório de Piscofarmacologia.

Aos meus amigos, amigas e companheiros de laboratório, em especial Geovani, Iana, Deysiane, Fernando, Michely, Karla Monik, Nathália, Taynara, Rayanne, Lázaro e Fabricio, a Ertha, Glória, Elisana, Lidiane, Roberta e Crispim pelas trocas de conhecimento, pelos incentivos, pela ajuda no desenvolvimento das análises, por terem ficado, muitas vezes, até altas horas da noite no laboratório apenas me acompanhado, e a todos os outros que contribuíram direto ou indiretamente. Vocês foram anjos que Deus colocou na minha vida.

Aos professores pela participação na banca examinadora desta tese, pelo incentivo à pesquisa e pela contribuição depositada neste trabalho.

À Universidade Federal do Pernambuco, Universidade Federal da Paraíba e Universidade Estadual da Paraíba, pela oportunidade de cursar esta Pós-Graduação, e disponibilizar seus laboratórios para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos mais que amigos Ryanne e Emanuel por toda acolhida durante esse tempo e a toda família do meu esposo.

As minhas amigas diretoras Mary kay que sempre me apoiaram e incentivaram a conclusão desse trabalho, em especial Patrícia e Isanna.

Ao CNPq e a CAPES.

*“Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu, é sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu.” (VILELA, 2016).*

## RESUMO

*Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth (Jurema de embira) e *Abelmoschus esculentus* L. (quiabo), são usadas no tratamento de tosse, bronquite, inflamações, infecções e como cicatrizante. Comprovar o uso medicinal destas plantas é necessário para definir padrões de comprovação de qualidade das mesmas. Realizar a caracterização de drogas vegetais obtidas de *Mimosa ophthalmocentra* e *Abelmoschus esculentus* e avaliar preliminarmente a segurança de uso. As folhas de *M. ophthalmocentra* e os frutos de *A. esculentus* foram coletadas, desidratadas, pulverizadas e separadas em diferentes tamanhos de partícula. A composição mineral foi realizada por espectrômetro de fluorescência de raios X. A composição centesimal foi realizada pelos métodos sugeridos pelo Instituto Adolfo Lutz. A caracterização físico-química e impressão digital foram realizadas por análises termoanalíticas (TG, DTA e CG/EM-Pir) e fitoquímicas (Polifenóis, Flavonóides e Taninos). O comportamento biológico foi avaliado por triagem comportamental farmacológica, determinação da dose letal 50%, Teste das Contorções Abdominais e hemólise. As análises minerais mostraram um teor de Cálcio de aproximadamente 66%, seguidos dos elementos K, Cl, S, Fe, Mg, P, Si e Mn em menores concentrações. A composição centesimal mostrou cerca de 60% de carboidratos, 2 a 9% de lipídeos e aproximadamente 16% de proteínas. Os dados térmicos e pirogramas mostraram diferenças significativas entre os vegetais analisados. As análises biológicas sugerem baixa toxicidade de ambas as plantas em estudo e uma possível ação antinoceptiva e antiinflamatória da *M. ophthalmocentra*.

**Palavras-chave:** Plantas. Alta Temperatura. Pirólise. Hemólise.

## ABSTRACT

*Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth (Jurema de embira) and *Abelmoschus esculentus* Linn (okra), are used without treatment of cough, bronchitis, inflammations, infections and as cicatrization. Proof of the use of medicinal plants is necessary to define patterns of composition of their origins. Carry out a characterization of plant drugs obtained from *Mimosa ophthalmocentra* and *Abelmoschus esculentus* and to preliminarily evaluate the safety of use. As leaves of *M. ophthalmocentra* and the fruits of *A. esculentus* were collected, dehydrated, pulverized and separated in different size of pieces. The mineral composition performed by X-ray fluorescence spectrometer. The centesimal composition was performed by the methods suggested by Adolfo Lutz Institute. The physical-chemical characterization and fingerprinting performed by thermo-analytical (TG, DTA and CG / MS-Pir) and phytochemical analyzes (Polyphenols, Flavonoids and Tannins). The biological study was evaluated by pharmacological screening, lethal dose determination, Abnormal Contortion Test and hemolysis. The mineral analyzes showed a calcium content of approximately 66%, followed by the elements K, Cl, S, Fe, Mg, P, Si and Mn in a lower concentration. The centesimal composition showed about 60% carbohydrates, 2 to 9% lipids and approximately 16% proteins. Thermal data and pyrograms were significant in the analyzed vegetables. The biological analyzes suggest low toxicity of both plants under study and a possible antinoceptive and antiinflammatory action of *M. ophthalmocentra*.

**Key words:** Plants. High temperature. Pyrolysis. Hemolysis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - A: Administração do extrato em testes. B: Camundongos em caixas após tratamento. C: Teste do reflexo corneal. D: teste da resposta ao aperto da calda. ....	45
FIGURA 2 - Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético.....	46
FIGURA 3 - Curvas TG das Drogas vegetais, obtidas de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth., em diferentes tamanhos de partículas na razão de 10°C/min em Ar sintético (A) e Nitrogênio (B). ....	55
FIGURA 4 - Curvas TG das Drogas vegetais, obtidas de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em diferentes tamanhos de partículas na razão de 10°C/min em Ar sintético (A) e Nitrogênio (B). ....	57
FIGURA 5 - Curvas TG da droga vegetal obtida das folhas de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas. ....	59
FIGURA 6 - Curvas TG da droga vegetal obtida dos frutos de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. em diferentes tamanhos de partículas. ....	62
FIGURA 7 - Curvas de DTA das drogas vegetais de <i>M. ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth em diferentes tamanhos de partículas. ....	65
FIGURA 8 - Sobreposição das curvas TG e DTA dos pós das drogas vegetais de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, na razão de aquecimento de 10 ° C / min. ....	67
FIGURA 9 - Curvas de DTA das drogas vegetais de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em diferentes tamanhos de partículas. ....	68
FIGURA 10 - Sobreposição das curvas TG e DTA dos pós das drogas vegetais de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em diferentes tamanhos de partículas, na razão de aquecimento de 10 ° C / min. ....	69
FIGURA 11 - Pirogramas das drogas vegetais obtidas das folhas de <i>M. ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, nas temperaturas de 250, 350 e 450°C.....	70

FIGURA 12 - Pirogramas das drogas vegetais obtidas dos frutos de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em diferentes tamanhos de partículas, nas temperaturas de 250, 350 e 450°C. ....	72
FIGURA 13 - Efeito da administração das substâncias em teste sob as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. ....	78
FIGURA 14 - Ação hemolítica <i>in vitro</i> da <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. em comparação com agente hemolisante e fármacos padrão. ....	81
FIGURA 15 – Ação hemolítica <i>in vitro</i> da e <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em comparação com agente hemolisante e fármacos padrão.....	82

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Classificação dos tamanhos de partículas micrométrica das amostras obtidas de acordo com a granulometria dos pós de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart ex Benth e <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	49
TABELA 2 - Composição mineral das drogas vegetais obtidas dos frutos de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> em diferentes tamanhos de partículas. ....	50
TABELA 3 - Composição mineral das drogas vegetais obtidas dos frutos de <i>Abelmoschus esculentus</i> L. em diferentes tamanhos de partículas. ....	50
TABELA 4 - Teor de cinzas e umidade das drogas vegetais de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart ex Benth e <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	52
TABELA 5 - Composição centesimal das drogas vegetais de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart ex Benth e <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	53
TABELA 6 - Parâmetros de decomposição da principal etapa de degradação das amostras obtidas da folhas da <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. L. ....	60
TABELA 7 - Parâmetros cinéticos de degradação térmica das drogas vegetais obtidas das folhas da <i>Mimosa ophthalmocentra</i> . ....	61
TABELA 8 - Parâmetros de decomposição da principal etapa de degradação das amostras obtidas dos frutos de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	63
TABELA 9 - Parâmetros cinéticos de degradação térmica das drogas vegetais obtidas de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	65
TABELA 10 - Eventos exotérmicos das DTA das drogas vegetais obtidas das folhas de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, na razão 10°C/min. ....	66
TABELA 11 - Eventos exotérmicos das curvas de DTA das drogas vegetais de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn em diferentes tamanhos de partículas. ....	68
TABELA 12 - Massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. ....	71

TABELA 13 - Massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	73
TABELA 14 - Teor de Polifenóis, Taninos e Flavonóides obtidos por espectroscopia na região do visível em cada droga vegetal na integra de <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth. ....	75
TABELA 15 - Teor de Polifenóis, Taninos e Flavonóides obtidos por espectroscopia na região do visível em cada droga vegetal na integra de <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. ....	75
TABELA 16 - Resultados hematológicos dos Ratos Wistar tratados com <i>Mimosa ophthalmocentra</i> Mart. ex Benth., <i>Abelmoschus esculentus</i> Linn. e Meloxicam. ....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
OMS	Organização Mundial de Saúde
CIM	Concentração Inibitória Mínima
%	Porcentagem
g	Gramas
mL	Mililitro
mg	Miligramas
v	Volume
µL	Microlitros
nm	Nanômetro
µg	Microgramas
p	Peso
kg	Kilogramas
cm <sup>3</sup>	Centímetro cúbico
°C	Graus celsius
TG	Termogravimetria
DTA	Análise Térmica Diferencial
Pir	Pirólise
CG	Cromatografia Gasosa
EM	Espectrometria de Massa
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
UV	Ultra violeta
VIS	Visível
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
LUDEM	Laboratório Unificado de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
UEPB	Universidade Federal da Paraíba
LABDEM	Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
FUNBITS	Fundação de Apoio a Biotecnologia e Inovação Tecnológica em Saúde
NUPEA	Núcleo de Pesquisa e Extensão em Alimentos

SNC	Sistema Nervoso Central
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
DL	Dose Letal
MO	<i>M. ophthalmocentra</i>
AE	<i>A. esculentus</i>
FRX	Fluorescência de Raios X ()
WDS	Espectrofotometro dispersivo de onda
i. p	injeção intraperitoneal
IMO	Infusão de <i>M. ophthalmocentra</i>
IAE	Infusão de <i>A. esculentus</i>
EHMO	Extrato Hidroalcoólico de <i>M. ophthalmocentra</i>
EHAE	Extrato Hidroalcoólico de <i>A. esculentus</i>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>21</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>22</b>
3.1	PLANTAS MEDICINAIS .....	22
3.2	<i>MIMOSA OPTHALMOCENTRA</i> MART EX BENTH.....	23
<b>3.2.1</b>	<b>Uso etnomedicinal</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Pesquisas farmacológicas e toxicológicas</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Constituintes fitoquímicos</b> .....	<b>25</b>
3.3	<i>ABELMOSCHUS ESCULENTUS</i> LINN .....	25
<b>3.3.1</b>	<b>Uso etnomedicinal</b> .....	<b>26</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Pesquisas farmacológicas e toxicológicas</b> .....	<b>26</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Constituintes fitoquímicos</b> .....	<b>28</b>
3.4	DROGAS VEGETAIS E O CONTROLE DE QUALIDADE .....	28
3.5	CARACTERIZAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS .....	30
3.6	PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL .....	31
3.7	TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS .....	31
3.8	CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSA ACOPLADA À PIRÓLISE .....	33
3.9	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E A AÇÃO BIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS .....	34
3.10	PESQUISA FARMACOLÓGICA EM ANIMAIS.....	36
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
4.1	LOCAL DA PESQUISA .....	38
4.2	PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL .....	38
4.3	CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA.....	38
<b>4.3.1</b>	<b>Separação dos pós em diferentes tamanhos de partículas</b> .....	<b>38</b>
4.4	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	39
<b>4.4.1</b>	<b>Determinação da Composição Mineral das drogas vegetais</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4.2</b>	<b>Análise da Composição Centesimal das drogas vegetais</b> .....	<b>39</b>
4.4.2.1	Determinação da Perda por Dessecação .....	39

4.4.2.2	Sais minerais (cinzas).....	40
4.4.2.3	Lipídios .....	40
4.4.2.4	Proteínas.....	40
4.4.2.5	Carboidratos .....	40
<b>4.4.3</b>	<b>Análise Termogravimétrica (TG) .....</b>	<b>41</b>
<b>4.4.4</b>	<b>Determinação da Cinética de degradação .....</b>	<b>41</b>
<b>4.4.5</b>	<b>Análise Térmica Diferencial (DTA).....</b>	<b>41</b>
4.5	IMPRESSÃO DIGITAL .....	42
<b>4.5.1</b>	<b>Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas acoplada à Pirólise (GC/EM- Pir).....</b>	<b>42</b>
4.6	QUANTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	42
<b>4.6.1</b>	<b>Determinação de polifenóis totais .....</b>	<b>42</b>
<b>4.6.2</b>	<b>Determinação de flavonoides totais .....</b>	<b>43</b>
<b>4.6.3</b>	<b>Determinação de taninos condensados.....</b>	<b>43</b>
4.7	TESTES BIOLÓGICOS .....	43
<b>4.7.1</b>	<b>Animais para os testes.....</b>	<b>43</b>
<b>4.7.2</b>	<b>Condições Experimentais .....</b>	<b>44</b>
<b>4.7.3</b>	<b>Substâncias utilizadas .....</b>	<b>44</b>
<b>4.7.4</b>	<b>Preparação de amostras .....</b>	<b>45</b>
<b>4.7.5</b>	<b>Triagem comportamental farmacológica e determinação da dose letal 50% (DL50) .....</b>	<b>45</b>
<b>4.7.6</b>	<b>Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético .....</b>	<b>46</b>
<b>4.7.7</b>	<b>Avaliação do efeito hemolítico em animais .....</b>	<b>46</b>
<b>4.7.8</b>	<b>Eutanásia dos animais .....</b>	<b>47</b>
<b>4.7.9</b>	<b>Avaliação da ação hemolítica <i>in vitro</i> .....</b>	<b>47</b>
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	48
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA.....	49
<b>5.1.1</b>	<b>Determinação da composição mineral .....</b>	<b>50</b>
<b>5.1.2</b>	<b>Composição Centesimal das drogas vegetais.....</b>	<b>51</b>
5.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS .....	54
<b>5.2.1</b>	<b>Análise Termogravimétrica (TG) .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Determinação da Cinética de degradação .....</b>	<b>58</b>

<b>5.2.3</b>	<b>Análise Térmica Diferencial (DTA).....</b>	<b>65</b>
<b>5.3</b>	<b>IMPRESSÃO DIGITAL.....</b>	<b>70</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas acoplada à Pirólise (GC/EM -PIR) .....</b>	<b>70</b>
<b>5.4</b>	<b>QUANTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....</b>	<b>74</b>
<b>5.5</b>	<b>TESTES BIOLÓGICOS .....</b>	<b>76</b>
<b>5.5.1</b>	<b>Triagem comportamental farmacológica e determinação da dose letal 50% (DL50) .....</b>	<b>76</b>
<b>5.5.2</b>	<b>Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético .....</b>	<b>77</b>
<b>5.5.3</b>	<b>Avaliação dos parâmetros hematológicos pós tratamento .....</b>	<b>79</b>
<b>5.5.4</b>	<b>Avaliação da ação hemolítica in vitro .....</b>	<b>80</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>84</b>

# 1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são produtos naturais de grande interesse científico devido à possibilidade de empregá-las como fitofármacos e por proporcionarem grandes chances de obtenção de moléculas protótipos devido à diversidade de seus constituintes químicos ativos (Lima et al., 2006).

O Brasil, por possuir a maior biodiversidade do planeta e um valioso conhecimento tradicional relacionado ao uso de plantas medicinais, tem sido base para grandes pesquisas científicas, proporcionando o estudo e o desenvolvimento de produtos naturais (Freires et al., 2010). Entretanto, mesmo que a quantidade de estudos com plantas medicinais tenha crescido nos últimos anos, poucos chegam a aprovar produtos para uso clínico (Sousa, et al., 2008).

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 10/2010, a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária - regula o uso popular de plantas medicinais na forma de drogas vegetais (Carvalho et al., 2012). Esta norma representa um grande marco na história das plantas medicinais, pois graças a ela estas plantas podem ser utilizadas na forma de droga vegetal, uma vez que sejam industrializadas e aprovadas por todo o controle de qualidade relatado nesta resolução. Além disso, pesquisas com o intuito de padronizar, determinar a eficácia e a segurança destas drogas estarão contribuindo para o aumento da lista de drogas vegetais reconhecidas pela ANVISA para uso popular.

Uma seleção de plantas medicinais a serem estudadas pode ser realizada através de cinco tipos de abordagem: Coletas randômicas, Quimiotaxonomia, Ecologia Química, Zoofarmacognosia e Resgate do Conhecimento Tradicional (RODRIGUES & OTSUKA, 2011). O conhecimento tradicional relata o uso de diversas plantas com atividade farmacológica, porém nem todas comprovadas cientificamente, dentre elas *Abelmoschus esculentus* L. e *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth.

*Abelmoschus esculentus* L., anteriormente conhecida como *Hibiscus esculentus* L. pertence à família Malvaceae e é conhecida popularmente por Quiabo. O uso etnomedicinal relata que os frutos, a mucilagem, as vagens e as raízes desse vegetal podem ser utilizadas no tratamento de diversas patologias, como por exemplo, no tratamento de irritações gástricas, inflamações, constipação, leucorréia, diabetes, icterícia, feridas, furúnculos, ansiedade, depressão e fraqueza geral (Carvalho et al., 2011; Jain et al., 2012). *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth pertence à família Fabaceae e é conhecida popularmente por Jurema de embira.

O uso etnomedicinal relata que as cascas do caule e a resina desse vegetal podem ser utilizadas no tratamento de tosse, bronquite, em processos inflamatórios e como cicatrizante (Agra et al., 2007; Sales & Silva, 2008). Estudos com plantas da mesma família da *M. ophthalmocentra* relatam o uso das folhas como antiinflamatória, cicatrizante e no combate de muitas doenças relacionadas com o sistema nervoso (Bum et al., 2004).

Desta forma, pesquisas científicas têm sido intensificadas a fim de comprovar o conhecimento da medicina popular e conhecer os aspectos botânicos, farmacológicos, toxicológicos e farmacognósticos presentes nos vegetais (Ribeiro, 2008).

Sendo assim, com base nessas informações sobre o uso etnomedicinal de *A. esculentus*, de *M. ophthalmocentra* e de outros vegetais da sua família, esta pesquisa objetiva caracterizar pós provenientes dos frutos de *A. esculentus* e das folhas de *M. ophthalmocentra* quanto aos parâmetros tecnológicos, físico-químicos e biológicos, visto que, quando os estudos são iniciados pela espécie vegetal e pela parte do vegetal indicado pela população, a probabilidade de se obter resultados satisfatórios quanto à atividade biológica é maior (Cechinel Filho & Yunes, 1998).

O processo de micronização de fármacos vegetais é um passo crítico na produção de produtos obtidos com plantas medicinais. A maior parte do tempo o material pulverizado representa um ingrediente indispensável para obter medicamentos à base de plantas. Portanto, o controle granulométrico de pó é um passo essencial no processo de produção. Assim, os métodos analíticos têm sido usados para caracterizar e analisar os aspectos físicos e químicos desses produtos para garantir a eficácia e segurança de seu uso. (Correia et al., 2016a). A análise térmica e a cromatografia gasosa/espectrometria de massa acoplada a pirólise é utilizada para a caracterização de drogas vegetais e análise autenticar sua qualidade, além de determinar o perfil de decomposição térmica e impressão digital (Correia et al., 2016b).

Alem da caracterização de matérias primas e o controle de qualidade para o desenvolvimento de medicamentos, a avaliação farmacológica é de fundamental importância para direcionamento e descoberta da ação terapêutica. O uso de animais nas pesquisas científicas tem contribuído com a ciência e tecnologia na descoberta tanto de tratamentos quanto até mesmo de medidas profiláticas de doenças em seres humanos (Branco et al., 2011). A triagem farmacológica comportamental é um teste preliminar de fácil execução para investigação da ação farmacológica de uma substância (Almeida et al., 1999; Almeida e Oliveira, 2006). A determinação das doses potencialmente tóxicas em animais de laboratório oferece mais segurança no uso dessas substâncias.

Testes mais específicos são bastante utilizados para o direcionamento de ações terapêuticas como o teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético uma vez que ele nos permite avaliar a nocicepção inflamatória visceral e a atividade antinociceptiva de substâncias que atuam tanto em nível central quanto periférico (Koster; Anderson; Debber, 1959). Entretanto o uso de antiinflamatórios pode causar alguns efeitos adversos nas células sanguíneas. Sendo assim é importante a avaliação do comportamento dessas células quando expostas a agentes terapêuticos, principalmente em estudos (Melo et al.,2012)

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar, quanto aos parâmetros tecnológicos, físico-químicos, impressão digital e comportamento farmacológico, drogas vegetais com diferentes tamanhos de partículas, provenientes das folhas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth. e dos frutos de *Abelmoschus esculentus* Linn.,.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter drogas vegetais em diferentes tamanhos de partículas, das folhas de *M. ophthalmocentra* e dos frutos de *A. esculentus*, ambos desidratados;
- Determinar a composição mineral e centesimal das drogas vegetais em diferentes tamanhos de partículas obtidas dos vegetais em estudo;
- Determinar uma impressão digital e as características termoanálíticas quanto a sua estabilidade térmica e produtos de decomposição;
- Avaliar a cinética de decomposição, das amostras, através dos dados obtidos pela termogravimetria dinâmica em diferentes razões de aquecimento;
- Quantificar metabólitos secundários das drogas vegetais em diferentes tamanhos de partículas obtidas dos vegetais em estudo;
- Avaliar o comportamento biológico quanto ao Sistema Nervoso das amostras obtidas;
- Determinar toxicidade das amostras obtidas;
- Avaliar ação de extratos obtidos das drogas vegetais sob a possível redução de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético;
- Avaliação do efeito hemolítico das folhas de *M. ophthalmocentra* e dos frutos de *A. esculentus*;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 PLANTAS MEDICINAIS

O interesse pelas plantas medicinais tem aumentado nos últimos anos na busca de cura e de controle de diversas patologias, e um dos fatores relevantes deste aumento é a procura significativa por novas substâncias que substituam os medicamentos atualmente usados, pelo fato de muitos não apresentarem a eficácia desejada ou pelos efeitos colaterais presentes (Freitas et al., 2012).

O interesse pelo consumo de produtos naturais se deve também à crença que a população tem destes serem mais "saudáveis" do que os medicamentos sintéticos, além de outras características desejadas, tais como eficácia, baixo custo e baixo risco de uso quando usadas corretamente (Rates, 2001; Choi et al., 2002; Veiga; Pinto; Maciel, 2005).

A utilização de plantas medicinais é significativa, uma vez que a Organização Mundial de Saúde (OMS) mostra que cerca de 80% da população mundial usou ou usa alguma planta na busca de alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável (Oliveira et al., 2006; Weisheimer et al., 2015). No entanto, apenas cerca 30% desse total foi por indicação médica, fato este que pode justificar o incentivo da OMS para estudos científicos nesta área (Werkman et al., 2008).

Para fazer uma seleção de plantas medicinais a serem estudadas, pesquisadores podem seguir cinco tipos de abordagem: coletas randômicas, quimiotaxonomia, ecologia química, zoofarmacognosia e resgate do conhecimento tradicional. As coletas randômicas são aquelas, cujas plantas são coletadas em uma determinada área, que possua grande biodiversidade e endemismo. Na abordagem Quimiotaxonômica as plantas são coletadas baseadas no histórico da família ou gênero do vegetal. A abordagem da Ecologia Química baseia-se na inter-relação entre plantas, animais e microrganismo, que resultam em produtos químicos de defesa. A Zoofarmacognosia é baseada na observação de animais que procuram plantas ou outros animais para curarem suas enfermidades. E o Resgate do Conhecimento Tradicional e Popular é realizado pela etnobotânica e etnofarmacologia (Rodrigues & Otsuka, 2011).

No Brasil, o uso de plantas medicinais é bastante difundido, uma vez que o país possui um grande número de espécies vegetais nativas consideradas medicinais, sendo que, na maioria dos casos, é utilizada de modo empírico, sem conhecimento do verdadeiro potencial

terapêutico e conseqüentemente uma adequada avaliação científica (Araujo et al., 2009; Costa et al., 2009).

A vegetação brasileira é composta de diversas famílias de plantas e muitas delas vêm sendo estudada com fins medicinais, como por exemplo, a família Malvaceae e Fabaceae. A família Malvaceae é constituída de aproximadamente 200 gêneros e 2.300 espécies, onde os maiores gêneros são: *Hibiscus*, com cerca de 300 espécies; *Streculia*, com 250 espécies; *Dombeya*, com 225 espécies; *Pavonia* e *Sida* com 200 espécies cada uma (Rizik & Soliman, 2014). A família Fabaceae, também conhecida como leguminosas, compreende 727 gêneros e 19.325 espécies. O território brasileiro possui com exclusividade muitas dessas espécies, totalizando cerca de 2.740 espécies em 220 gêneros. Vale resaltar que a família Fabaceae é subdividida em 3 subfamílias, *Faboideae*, *Caesalpinioideae* e *Mimosoideae*, porém com características morfológicas bastante distintas.

Ambas as famílias ressaltadas anteriormente apresentam espécies que são bem conhecidas pela população do semiárido brasileiro, como por exemplo, a espécie a *A. esculentus* pertencente a família Malvaceae, e *M. ophthalmocentra* pertencente a família Fabaceae.

### 3.2 MIMOSA OPHTHALMOCENTRA MART EX BENTH.

*M. ophthalmocentra* é uma planta nativa do Brasil, cresce facilmente em solo arenoso e é amplamente encontrada no Distrito Federal, Rio Grande do Norte, Bahia, Pernambuco, em áreas do cerrado e da Caatinga brasileira (Silva & Sales, 2008) e Cariri Paraibano (Lima & Barbosa, 2014). É um arbusto ou árvore pequena, de 3 a 5 m de altura, usada como forrageira e as suas folhas e legumes são consumidas por cabras, ovelhas e bovinos (Silva et al., 2011).

Possui caule espinhoso e apresenta textura rugosa. Seu tronco cresce cerca de 20 cm de diâmetro e sua madeira tem uma densidade de 1,12 g/cm<sup>3</sup>, justificando o seu uso como lenha. As folhas são bipinadas com dois a quatro pares de pinas, as flores podem aparecer em diferentes épocas do ano, mas principalmente no mês de dezembro, onde se apresentam com pétalas brancas amareladas. O fruto geralmente apresenta coloração verde, porem pode variar entre as tonalidades de vermelho a rosa (Silva & Sales, 2008; Silva et al., 2011).

*M. ophthalmocentra* é conhecida popularmente por Jurema de embira, Jurema de imbira ou Jurema vermelha. Entretanto é comumente confundida com a *M. tenuiflora* (Willd),

jurema-preta, pela semelhança nos aspectos morfológicos que ambas apresentam. Suas características podem ser diferenciadas por métodos microscópicos e também macroscópicos, o quais estão descritos em Silva et al., 2011.

### 3.2.1 Uso etnomedicinal

Poucos relatos do uso etnomedicinal de *Mimosa ophthalmocentra* são encontrados na literatura. Entretanto, vale resaltar que, no nordeste do Brasil, o extrato aquoso das cascas do caule de *M. ophthalmocentra* é produzido por decocção e utilizado para o tratamento de tosse e bronquite (Silva & Sales, 2008). Agra et al., (2007) também relatam em um documento que apresenta uma Sinopse da Flora Medicinal do Cariri Paraibano, que o xarope ou o decocto das cascas do caule desse vegetal, também são usados contra bronquites e tosses. Silva et al., (2011) relatam em seu estudo que a resina *M. ophthalmocentra* além de ser comestível é recomendada no tratamento de infecção do sistema respiratório e que as cascas são utilizadas como cicatrizante e anti-inflamatório. Estudos com plantas da mesma família da *M. ophthalmocentra* relatam o uso das folhas como antiinflamatória, cicatrizante e no combate de muitas doenças relacionadas com o sistema nervoso (Bum et al., 2004).

### 3.2.2 Pesquisas farmacológicas e toxicológicas

Ferreira (2013) avaliou em seu trabalho a atividade antifúngica de *M. ophthalmocentra* e observou que diferentes tipos de extratos obtidos dessa planta inibiram o crescimento de quatro espécies de *Candida*, entre elas a *C. albicans* e *C. krusei*. Apenas esse estudo farmacológico foi encontrado com *M. ophthalmocentra*.

Entretanto, pesquisas de ação farmacológica de outras plantas pertencentes ao mesmo gênero *M. ophthalmocentra* foram encontrados, tais como: Rivera-Arce et al., (2007), que avaliaram as propriedades cicatrizantes de *M. tenuiflora* em um estudo *in vivo*; Arokiyaraj et al., (2012), determinando a atividade antioxidante e antimicrobiana de *M. pudica*; Molina et al., (1999) detectaram em seu estudo que *M. pudica* produziu um efeito antidepressivo semelhante ao de dois antidepressivos tricíclicos; Bum et al., (2004) avaliaram a atividade anticonvulsivante e Amalraj & Ignacimuthu (2002) observaram um efeito hiperglicêmico significativo de extrato etanólico das folhas de *M. pudica* em ratos; Santos et al., (2015)

avaliaram o efeito hipotensor e vasorelaxante do extrato etanólico de *M. caesalpinifolia* em ratos.

Algumas pesquisas mostram que animais alimentados com sementes de *M. ophthalmocentra* e *M. tenuiflora* estão apresentando alguns efeitos de intoxicações em casos de animais gestantes, uma vez que foram detectadas malformações embrionárias e morte em ovinos, caprinos, bovinos e roedores (Riet-Correa et al., 2004, 2007). É importante ressaltar que não foram encontrados, na revisão bibliográfica realizada, estudos que avaliassem a toxicidade aguda e crônica de produtos obtidos para uso farmacológico, sendo assim necessária uma pesquisa mais profunda do potencial tóxico destas plantas.

### 3.2.3 Constituintes fitoquímicos

Na literatura pesquisada, apenas relato da presença de alcaloides em *M. ophthalmocentra* foi encontrado (Morais, Alvarenga & Ferreira, 1990; Batista et al., 1999). Entretanto, foram evidenciados alguns compostos fitoquímicos em plantas do mesmo gênero. Em extratos de *M. tenuiflora* foram encontrados flavonoides, alcaloides, saponina e taninos (Meckes-Lozoya et al., 1990; Anton et al., 1993; Silva et al., 2011) e Bum et al., (2004) mostrou que a caracterização fitoquímica de *M. pudica* revelou a presença de taninos, esteróides, alcaloides, glicosídeos triterpenos e flavonoides.

## 3.3 ABELMOSCHUS ESCULENTUS LINN

*A. esculentus*, anteriormente conhecida como *Hibiscus esculentus* L. é uma planta arbustiva anual, uma hortaliça de clima quente e por isso é um dos cultivos mais bem adaptados ao clima tropical brasileiro (Jain et al., 2012). As baixas temperaturas causam danos aos frutos e impedem o pleno crescimento da planta, porém em temperaturas adequadas atinge de 1 a 1,7 metros de altura.

Possui caule ereto, de coloração variando entre o esverdeado ao avermelhado, suas folhas são lobadas e suas flores são axilares. O fruto é uma cápsula fibrosa de forma cônica, coloração verde e textura peluda, cheia de sementes brancas de formas arredondadas. Os frutos desse vegetal são muito utilizados na culinária antes da maturação, pois próximos à maturação eles ficam endurecidos (Tongjaroenbuangam et al., 2011).

Popularmente *A. esculentus* é conhecido por quiabo, quingombô, gombô, quibombô, quibombô, quigombô, quibombô, quimbombô, quingobô, quingombô, quingombô e dedo da senhora (Jain et al., 2012).

### 3.3.1 Uso etnomedicinal

Na medicina asiática as vagens de *A. esculentus* têm sido utilizadas para o tratamento de irritações gástricas e inflamações (Carvalho et al., 2011). Os Índios de Tapebas no Ceará usam o chá das sementes ou o lambedor para fadiga pulmonar três vezes ao dia. Os egípcios acreditavam que comer *A. esculentus* impedia o desenvolvimento de cálculos urinários (Kamal, 1975). Chopra et al., (1956) relataram o uso das vagens frescas para curar a constipação, leucorreia diabetes e icterícia. A mucilagem é utilizada no tratamento da diarreia e de úlcera gástrica. Um copo cheio de mucilagem misturado com uma banana madura é utilizado no tratamento da colite, cistite, hepatite e icterícia (Chopra et al., 1956; Aman, 1969). Infusão das raízes é utilizada no tratamento da sífilis; o suco, também das raízes, é usado para tratar cortes, feridas e furúnculos; a decocção das folhas é emoliente, diurética e utilizada no tratamento de infecção catarral, ardor urinário, disúria e gonorreia e as sementes são antiespasmódicas, cordiais, estimulantes e sudoríficas (Jain et al., 2012).

*A. esculentus* pode favorecer o bem estar do organismo devido às suas propriedades, sendo assim, a mucilagem controla o colesterol, as fibras presentes no fruto controlam os níveis de açúcar no sangue e asseguram propriedades purgativas suaves sobre o intestino por conter um nutriente valioso para microorganismos intestinais. *A. esculentus* garante a recuperação de condições psicológicas e mentais como ansiedade, depressão e fraqueza geral, além disso, também protege as mucosas do aparelho digestivo (Jain et al., 2012).

Outro estudo na Índia relata que pedaços de *A. esculentus* são utilizados no desenvolvimento de uma pasta à base de água para ser usada no tratamento de úlceras gástricas e duodenais, internamente, onde uma colher de sopa de pasta deve ser ingerida de três a quatro vezes por dia (Joshi et al., 2011).

### 3.2.2 Pesquisas farmacológicas e toxicológicas

Tongjaroenbuangam et al., (2011) avaliaram a atividade neuroprotetora utilizando 50 g de po de *A. esculentus* em 200 mL de etanol por extração em Soxhlet. Ansari et al., (2005)

avaliaram as propriedades antioxidantes dos extratos de *A. esculentus* obtidos por maceração a frio e a quente. Adelakun et al., (2009) determinaram a atividade antioxidante da farinha de sementes de *A. esculentus* torradas.

Bevans e colaboradores (2001) avaliaram a eficácia dos frutos de *A. esculentus* para o tratamento da conjuntivite e a atividade antibacteriana dos frutos e das flores. Carvalho et al., (2011) avaliaram o efeito antibacteriano do extrato aquoso dos frutos de *A. esculentus*, determinando uma concentração inibitória mínima (CIM) de 97,7 mg/mL. Extratos aquosos liofilizados e frescos de *Abelmoschus esculentus* foram efetivos contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. Aeruginosa*, onde o extrato fresco exibiu melhores propriedades antibacterianas que o extrato liofilizado, com CIM de 6,4 e 12,8 mg/mL para *S. aureus* e *P. aeruginosa*, respectivamente (Montalvo et al., 2013). Chaudhari et al., (2011) utilizaram em suas pesquisas cinco diferentes solventes orgânicos, tais como n-butanol, éter de petróleo, metanol, acetato de etila e clorofórmio para extrair os compostos bioativos dos frutos de *A. esculentus* e avaliaram a atividade antibacteriana de cada fração.

Alqasoumi (2012) observou atividade hepatoprotetora significativa usando 250 e 500 mg/kg, de peso corporal de camundongos, de extrato etanólico de vagens secas maceradas em etanol. Entretanto, Umoh et al., 2013 observaram que a exposição crônica oral (28 dias de administração) de 500 mg/kg de extrato etanólico de frutos de *A. esculentus* possuiu o potencial de induzir hepatotoxicidade em ratos. Alguns estudos de toxicidade também foram realizados com o *A. esculentus*, e não foram registrados sintomas de toxicidade em análises realizadas com 2000 mg / kg até 8 g/kg de extrato etanólico de *A. esculentus* em camundongos (Sabitha et al., 2011; Alqasoumi, 2012).

Lengsfeld e colaboradores (2004) estudaram a capacidade do *A. esculentus* inibir a adesão de *Helicobacter pylori*. Gurbuz et al., (2003) avaliaram o efeito antiulcerogênico dos extratos aquoso e metanólico de *A. esculentus*. Joshi et al., (2011) determinaram que 1 g de mucilagem dissolvida em água para cada quilograma de um animal apresentou inibição de ulcera gástrica. Messing et al., (2014) observaram em seu estudo que uma concentração de 0,2 a 2 mg/mL de extrato aquoso dos frutos de *A. esculentus* liofilizado inibiu *Helicobacter pylori*. Taiye et al., (2013), avaliando extratos metanólicos e hexânicos de frutos de *A. esculentus* nas concentrações de 100 a 400 mg/mL, observaram também ação inibitória frente a *Helicobacter pylori*.

### 3.2.3 Constituintes fitoquímicos

Poucos estudos são encontrados com a determinação fitoquímica de *A. esculentus*, e a maioria destes referem-se apenas a triagens qualitativas a fim de revelar quais os constituintes presentes. Dentre os estudos encontrados vale ressaltar o de Alqasoumi (2012), onde uma triagem qualitativa preliminar de frutos de *A. esculentus* revelou a presença de flavonoides, taninos, antraceno, esteróis e/ou triterpenos; bem como Adetuyi & Ibrahim (2014) que determinaram a presença quantitativa de compostos fenólicos e de flavonoides totais em sementes de *A. esculentus*, assim como Dovich (2009), que estudou a ação ansiolítica do flavonoide rutina em camundongos.

## 3.4 DROGAS VEGETAIS E O CONTROLE DE QUALIDADE

O uso de plantas medicinais e seus derivados continuam crescendo em meio aos recursos terapêuticos disponíveis. Esse uso se deve tanto ao conhecimento tradicional da população quanto do incentivo das políticas públicas de saúde em programas que estimulam e favorecem prática da fitoterapia (Brasil, 2012; Lima & Gomes, 2014).

Com o crescimento do uso dessa terapia alternativa, a preocupação com a qualidade de tais produtos cresce em paralelo, pois as agências regulatórias e os fabricantes devem assegurar não apenas a eficácia terapêutica desses produtos mas também sua qualidade, seja da matéria-prima para uso direto ou de produtos farmacêuticamente obtidos (Gindri et al., 2012). Essa preocupação com tais produtos está associada a problemas que foram comumente encontrados ao analisar algumas amostras, tais como a autenticidade do vegetal, a composição química das matérias-primas e sua pureza, fatores que contribuem diretamente para a qualidade ou a má qualidade de um fitoterápico (Dias et al., 2013). Estes fatores estão associados ao fato de que as obtenções de drogas vegetais são normalmente oriundas de plantas coletadas, secas e empacotadas sem um controle sanitário rigoroso (Gindri et al., 2012).

No decorrer de alguns anos, várias pesquisas foram e estão sendo realizadas no Brasil mostrando que a situação de matérias-primas vegetais e produtos a base de plantas medicinais é precária (Carvalho et al., 2004; Zaroni et al., 2004; Zuin et al., 2004; Melo et al., 2007; Tobias et al., 2007, Dias, et al., 2013). Desta forma, o Ministério da Saúde do Brasil lançou normas federais, que contemplam a matéria-prima vegetal, os derivados de droga

vegetal e o medicamento fitoterápico, para disciplinar tanto a comercialização de produtos fitoterápicos no país quanto o registro de tais produtos, a fim de estabelecer regras baseadas em parâmetros de qualidade, eficácia terapêutica e segurança no uso destas substâncias (Dias et al., 2013).

Seguindo esse contexto, o desenvolvimento e a obtenção desses produtos envolvem diversas áreas da ciência, uma vez que esse processo envolve uma análise botânica correta do vegetal, o isolamento, a purificação e a caracterização dos princípios ativos relacionados a eficácia terapêutica em conjunto com a investigação farmacológica e os mecanismos de ação desses compostos, o desenvolvimento farmacotécnico de um produto, além da avaliação criteriosa da qualidade, eficácia e segurança da matéria-prima e do produto obtido (Lima & Gomes, 2014).

A população faz uso de plantas medicinais em preparação caseira de infusões, decocções e macerações usando drogas vegetais, entretanto essa forma de uso tem critérios de qualidade menos exigentes que os medicamentos fitoterápicos, porém não menos importantes. Sendo assim, a ANVISA determinou que o produto final deve ser avaliado em diferentes aspectos, e principalmente quanto à presença e quantificação de seus marcadores, pois estes serão essenciais na determinação da dosagem e no desenvolvimento do produto até sua apresentação final. Além disso, estabelece um controle de qualidade não só na produção de drogas vegetais mas também no seu comércio, que muitas vezes são vendidas de forma irregular em estabelecimentos como feiras livres, casas de produtos naturais e supermercados, colocando em risco a saúde dos consumidores (Pereira, 2005; Carvalho, 2011).

Para avaliar a qualidade, os parâmetros devem estar de acordo com monografias oficiais assim como as metodologias utilizadas devem ser baseadas em referências oficiais, porém caso não exista uma metodologia analítica para tal fim, o método pode ser desenvolvido e aplicado, desde que previamente validado, conforme determina a Resolução N° 899, de 29 de maio de 2003 (Brasil, 2003; Lima & Gomes, 2014).

Alguns requisitos já estão disponíveis na literatura referentes à droga vegetal, sendo eles: relatório descritivo dos métodos de secagem, estabilização e conservação; laudo de identificação emitido por um profissional habilitado que permita a confirmação da identidade botânica; testes para autenticidade, com a descrição das características organolépticas, macroscópicas e microscópicas; pesquisa de matérias estranhas como insetos, outras plantas ou impurezas de natureza mineral; pH; cinzas; umidade; densidade; granulometria; testes microbiológicos; teor de resíduo seco; ensaios fitoquímicos (identificação de grupos de

princípios ativos), análises térmicas, entre outros (Netto , et al., 2006; Anvisa, 2009; Farmacopéia Brasileira, 2010).

Mesmo que seja para a população utilizar a planta vegetal em forma de droga vegetal, todos esses critérios devem ser seguidos a fim de garantir a qualidade e a autenticidade da droga, e caso posteriormente essa droga vegetal seja utilizada para o desenvolvimento de um produto fitoterápico, a sua qualidade é essencial para a eficácia do fitoterápico (Netto et al., 2006).

O controle de qualidade das matérias-primas e dos produtos acabados de origem vegetal ainda é um grande obstáculo a ser superado (Gindri et al., 2012). Este fato justifica a necessidade de pesquisas com plantas medicinais com metodologias analíticas que contribuam para a caracterização tanto da autenticidade desses produtos quanto da eficácia e segurança de uso, principalmente das plantas utilizadas pela população de modo aleatório com fins terapêuticos.

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA regula o uso popular de plantas medicinais na forma de drogas vegetais por meio da Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 10/2010 (CARVALHO et al., 2012). Esta norma representa um grande marco na história das plantas medicinais, trazendo as análises de identidade e qualidade que devem ser realizadas. A Farmacopéia Brasileira estabelece monografias com testes analíticos de controle da qualidade e a caracterização de diversas plantas (Souza et al., 2010). Desta forma os testes analíticos que fazem parte do controle de qualidade têm por sua função principal averiguar e comprovar que a obtenção e os produtos envolvidos apresentem parâmetros de qualidade pré-estabelecidos (Brasil, 2008). Dentre os testes analíticos podem estar envolvidos os ensaios Físico-Químicos que abrangem a Composição Centesimal, Técnicas Termoanalíticas que avaliam a estabilidade térmica, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, que permite um perfil cromatográfico ou “*fingerprint*” das amostras em estudo e a Ressonância Magnética Nuclear, que pode ser empregada no estudo de moléculas orgânicas, metabólitos, produtos naturais e outras amostras.

### 3.6 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A Farmacopéia Brasileira V (2010) a RDC n° 10 de 2010 e descrevem testes que devem ser utilizados para caracterizar uma droga vegetal, como a análise granulométrica que é utilizada na caracterização de pós como grosso, moderadamente grosso, semi-fino, fino ou finíssimo; a determinação do teor de umidade que é de grande importância do ponto de vista tecnológico de produção, uma vez que grandes quantidades de água comprometem a estabilidade microbiológica e química do produto; o teor de cinzas presente na amostra que está relacionado a quantidade de matérias inorgânicas e contaminantes, como areia; o limite para metais pesados; a investigação dos contaminantes microbiológicos; a prospecção fitoquímica por Cromatografia em Camada Delgada; entre outros.

Além dos ensaios sugeridos pela Farmacopéia Brasileira e pela ANVISA, a composição centesimal que determina a proporção em que grupos homogêneos de substâncias aparecem em 100 g do produto também pode ser determinada em matéria-prima vegetal. Os grupos envolvidos na composição centesimal são: Umidade ou voláteis a 105°C, Cinzas ou resíduo mineral fixo, Lipídios, gorduras ou extrato etéreo, Proteína bruta ou extrato nitrogenado, Carboidratos, glicídios, açúcares ou sacarídeos e Fibras ou substâncias insolúveis. As informações obtidas podem também ser utilizadas para calcular o valor calórico do produto.

### 3.7 TÉCNICAS TERMOANALÍTICAS

Matérias-prima de plantas medicinais são produtos comerciais e tem que ser padronizadas e caracterizadas. No entanto, faltam informações sobre a composição química geral de muitas matérias-primas oriundas de plantas medicinais e suas propriedades físico-químicas, como por exemplo, a caracterização térmica de materiais vegetais (Wesołowski & Koniecznyński, 2003).

Sendo assim, técnicas termoanalíticas têm sido amplamente utilizadas na caracterização e no controle de qualidade de matérias-primas de origem vegetal, uma vez que estas técnicas podem fornecer informações, tais como o teor de umidade, teor de cinzas, transformações de fase, teor de compostos voláteis e não voláteis, caracterização de polimorfismo, estabilidade e cinética de degradação (Wesołowski & Koniecznyńsk, 2003; Araújo et al., 2006; Oliveira et al., 2011; Rocha, 2012).

Essas técnicas vêm sendo realizadas com o intuito de identificar e investigar processos que podem ocorrer quando as amostras são submetidas a determinada temperatura, tais como eventos que caracterizam uma oxidação, isomerização, vaporização, desidrogenação, degradação térmica e polimerização que podem ser percebidos de acordo com as características dos picos evidenciados, a faixa de temperatura e a ocorrência ou ausência da perda de massa pela amostra (Portella et al., 2014).

As análises térmicas acontecem sob um controle sistemático de alguns parâmetros que envolvem a atmosfera, a razão de aquecimento, o ganho ou a perda de massa, a temperatura e o fluxo de calor, sendo este exotérmico ou endotérmico. As alterações que ocorrem nas amostras são monitoradas através de um transdutor que produz o sinal elétrico de saída análogo à transformação ocorrida. Dessa forma, dependendo do transdutor têm-se equipamentos termoanalíticos diferentes e que medem propriedades diferentes. Dentre as técnicas de Análise Térmica, as mais utilizadas são a Termogravimetria, a Análise Térmica Diferencial e a Calorimetria Exploratória Diferencial (Haines, 1995; Rocha, 2012).

A Termogravimetria (TG) consiste em uma técnica na qual a variação da massa da amostra é medida em função do tempo e/ou da temperatura. Enquanto a amostra é aquecida uma termobalança pesa sua massa continuamente permitindo identificar a faixa de temperatura em que esta começa a se decompor (Haines, 1995; Silva et al., 2007; Rocha, 2012). Desta forma, as curvas de TG fornecem informações relativas quanto à composição e estabilidade térmica da amostra, dos produtos intermediários e do resíduo formado (Correia et al., 2013).

Outros métodos são importantes para confirmar a identidade dos processos apresentados pelas curvas de TG, pois estes podem agregar aos resultados fornecidos pela termogravimetria informações relacionadas a entalpia, identificação de compostos, quantificação de compostos conhecidos e elucidação da estrutura e de propriedades químicas de moléculas, etc. (Correia et al., 2013).

Neste contexto, a Análise Térmica Diferencial (DTA) pode ser utilizada em paralelo com a TG, uma vez que essa é uma técnica na qual a temperatura da amostra comparada com a temperatura de um material de referência inerte é registrada quando a amostra é aquecida a uma razão de temperatura uniforme, permitindo o reconhecimento de efeitos térmicos através das variações de temperatura da amostra causadas por transições entálpicas que podem ser de caráter endotérmico ou exotérmico (Silva et al., 2007; Teles, 2009).

Estudos que aplicaram as técnicas termoanalíticas na caracterização, padronização e controle de qualidade de produtos oriundos de plantas medicinais podem ser encontrados na literatura: Aragão (2002), Silva-Júnior et al., (2006), Camelo (2009), Costa et al., (2011) avaliaram a qualidade de extratos obtidos de drogas vegetais; Novak et al., (2004), Giuffrida et al., (2006) e Benício, Neto e Sousa (2010) utilizaram as técnicas para avaliar óleos essenciais; Araújo et al., (2006), Noriega et al., (2010), Gomes (2011), Correia et al., (2013), Santos et al., (2013), Santana (2014), Holanda Neto (2013), Correia et al., (2016a,b) Brandão et al., (2016) e Guimarães et al., (2017) caracterizaram drogas vegetais na integra.

### 3.8 CROMATOGRAFIA GASOSA E ESPECTROMETRIA DE MASSA ACOPLADA À PIRÓLISE

A técnica de Pirólise é um processo de conversão do material orgânico em produto energético. O processo de decomposição térmica do material ocorre em temperaturas elevadas com ausência parcial ou total de oxigênio. Os resultados de uma pirólise ainda podem variar de acordo com as determinações do operador quanto aos seguintes parâmetros: temperatura de operação do reator, tempo e a razão de aquecimento das amostras, e a pressão de operação do sistema (Figueiredo, 2011).

Quando a amostra é submetida a uma pirólise, parte da amostra é reduzida a carbono e a outra parte quando oxidada pode dar origem a vários compostos, como carboidratos, alcoóis, ácidos carboxílicos, aldeídos, cetonas e fenóis. Com os resultados obtidos, quanto à composição química, é possível determinar a impressão digital (*Fingerprint*) da amostra (Rocha, Mesa Pérez & Cortez, 2004; Figueiredo, 2011).

A técnica de Pirólise pode ser utilizada sozinha ou acoplada a outras técnicas, tais como à Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massa (Pir-CG/EM) e assim pode ser aplicada com diversas finalidades. Na literatura podem-se encontrar exemplos do uso da técnica de Pirólise com produtos vegetais.

Acikgoz & Kockar (2009) e Mothé & Miranda et al., (2009) caracterizaram óleos obtidos de sementes de linhaça e casca de laranja, respectivamente; Wang et al., (2009) determinaram a presença de compostos químicos, entre eles de alquilfenóis em folhas de *Ginkgo biloba*; Frade et al., (2010), Oliveira et al., (2010), Correia et al., (2013), Wang et al., (2011), Correia et al., (2016a,b) Brandão et al., (2016) e Guimarães et al., (2017) identificaram drogas vegetais obtendo o “*Fingerprint*” de diferentes plantas.

Com os resultados destes trabalhos foi possível observar que as informações fornecidas pela técnica de Pirólise acoplada a outras técnicas são úteis na identificação de amostras vegetais, favorecendo o controle de qualidade e pureza das mesmas.

### 3.9 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E A AÇÃO BIOLÓGICA DE PLANTAS MEDICINAIS

A seleção de plantas a serem estudadas farmacologicamente não é fácil, uma vez que a quantidade de espécies ainda a serem exploradas é muito grande. Partindo deste princípio, os relatos da medicina popular podem ser utilizados como guia na escolha de espécies vegetais com potencial terapêutico (Pereira & Cardoso, 2012).

O interesse em se confirmar o conhecimento da medicina popular ocasiona um avanço tecnológico e intensifica pesquisas científicas com o intuito de estudar e conhecer os aspectos botânicos, farmacológicos, toxicológicos e dos compostos químicos presentes nas plantas que provavelmente são os responsáveis pela ação terapêutica (os compostos fotoquímicos) (Ribeiro, 2008). Desta forma, devem-se levar em consideração todas as informações relatadas na medicina popular, uma vez que, quando os estudos são iniciados pela espécie vegetal indicada pela população, a probabilidade de se obter resultados satisfatórios quanto à atividade biológica é maior (Cechinel Filho & Yunes, 1998).

Com os resultados de alguns estudos com plantas medicinais, foi observado que o potencial terapêutico apresentado está relacionado com a presença nas espécies vegetais de substâncias químicas conhecidas com metabólitos secundários. Estes metabólitos são estruturas complexas, de baixo peso molecular e que normalmente apresentam-se em baixas concentrações e em determinados grupos de plantas (Berg & Lubert, 2008). Os metabólitos secundários já foram considerados apenas produtos de excreção da síntese metabólica dos vegetais, porém hoje se sabe que eles estão envolvidos na proteção das plantas contra as condições do meio ambiente e aos ataques de insetos (Simões et al., 2007). Muitos desses metabólitos são importantes não apenas na área farmacêutica, mas também nas áreas de perfumaria, alimentares, agrônomicas, entre outras (Pereira & Cardoso, 2012).

A origem dos metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose através da via de dois intermediários principais, o acetato e o ácido chiquímico (Pereira & Cardoso, 2012). Os aminoácidos alifáticos e os alcaloides derivados deles, os esteroides, os terpenóides, os triglicérides e os ácidos graxos são os derivados do acetato,

enquanto que as cumarinas, os taninos, os alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanóides são os derivados do ácido chiquímico (Leite, 2008).

A presença e a quantidade dos metabólitos secundários nas plantas podem variar ou não de acordo com diversos fatores, uma vez que pesquisas já mostraram que: uma determinada planta variou as concentrações de seus metabólitos ou ser estudada em diferentes épocas do ano; e uma determinada planta estudada durante dois anos, sendo coletada tanto em diferentes épocas do ano quanto em habitat diferentes, e ainda manteve concentrações constantes de metabólitos secundários (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Uma planta pode conter muitos metabólitos secundários, porém nem todos geralmente estão presentes em concentrações significantes que possam ser isoladas e estudadas pela fitoquímica. E para o estudo desses compostos, mesmo os presentes em boas quantidades, é necessário um trabalho que envolva normalmente químicos e farmacólogos onde, a partir de soluções extrativas dos componentes químicos dos vegetais, sejam realizadas obtenções e análises de semi-puros, frações e finalmente dos compostos puros e a fim de evidenciar a sua composição, concentração e seu respectivo potencial terapêutico (Cechinel Filho & Yunes, 1998).

Os metabólitos secundários podem ser agrupados resumidamente em quatro grupos. Grupo I: Terpenos, onde se encontram os hormônios e os óleos essenciais; Grupo II: Compostos fenólicos, onde se encontram as cumarinas, os flavonoides, os taninos e as ligninas; Grupo III: Glicosídeos, onde se encontram as saponinas, os glicosídeos cardíacos, os glicosídeos cianogênicos e os glucosinolatos. Grupo IV: Alcaloides.

Há alguns anos muitos estudos tem tido como objetivo avaliar a atividade farmacológica de plantas medicinais e de seus constituintes. Alcaloides, flavonoides, triterpenos, taninos, lignanas, sesquiterpenos e outros metabólitos secundários foram obtidos de algumas espécies vegetais e suas ações farmacológicas foram comprovadas através de testes *in vitro* e *in vivo* com animais (Cechinel Filho & Yunes, 1998; Oliveira et al., 2014; Zanin & Lordello, 2007; Ferreira, 2014; Valotto et al., 2011).

Gomes (2011) e Pereira & Cardoso (2012) relatam em seus estudos algumas atividades farmacológicas de metabólitos secundários, sendo elas: Flavonoides - atividade antioxidante, antiinflamatória, antitumoral, antihepatotóxica, anticoagulante, antihipertensiva e ação no sistema nervoso central; Esteróides - redução da absorção do colesterol, redução do risco de doenças cardiovasculares e inibição do crescimento de tumores malignos; Catequinas - redução na incidência de câncer, redução do colesterol sérico e estimulação do sistema

imunológico; Taninos – ação antimicrobiana, antioxidante, antihemorrágica, antisséptica, anti-diarréica, cicatrizante, vasoconstritora, e bloqueadora da formação de substâncias cancerígenas. Saponinas - antioxidantes, antiséptica, laxativa, antimicrobiana e anti-inflamatória, expectorante, mucolítica, diurética, ação no sistema nervoso central e citotóxica atuando contra células tumorais. Desta forma, os metabólitos secundários presentes nos vegetais são de grande interesse para área da farmacologia, uma vez que apresentam efeitos biológicos sobre a saúde da espécie humana e podem ser fontes de novos medicamentos (Pereira & Cardoso, 2012).

Portanto, pesquisas com plantas medicinais devem continuar sendo realizadas a fim de fornecer dados que comprovem a ação biológica e outros fatores relevantes à saúde da população.

### 3.10 PESQUISA FARMACOLÓGICA EM ANIMAIS

Experimentos com o uso de animais nas pesquisas científicas têm contribuído e promovido o desenvolvimento da ciência e tecnologia na descoberta de tratamentos e medidas profiláticas de doenças em seres humanos. Embora nos últimos tempos sejam utilizados animais de várias espécies, os ratos e camundongos são os mais conhecidos e utilizados cientificamente (Branco et al., 2011)

Esses roedores têm sido os mais utilizados por possuírem características fisiológicas e genéticas semelhantes à dos humanos. Desta forma, pesquisadores padronizam linhagens e condições experimentais para simular as complexas interações de órgãos e sistemas, favorecendo o estudo de doenças e possibilitando a compreensão *in vivo* dos eventos relacionados ao desenvolvimento da doença (Melo et al., 2012).

A triagem farmacológica comportamental é realizada pelo emprego de alguns critérios comparativos entre uma série de comportamentos apresentados pelos animais. É um teste preliminar de fácil execução que possibilita investigar o perfil farmacológico de uma substância, de forma qualitativa e algumas de suas ações do Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (Almeida et al., 1999; Almeida e Oliveira, 2006).

Na pesquisa de novas drogas é fundamental a determinação das doses potencialmente tóxicas em animais de laboratório para proporcionar aos pesquisadores mais segurança e evitar que essas doses mascarem os efeitos observados em relação à verdadeira ação psicofarmacológica da substância em análise. Estes indícios de toxicidade são fornecidos pela

dose letal mediana (DL50), caracterizada como a dose única de uma substância capaz de provocar a morte de 50% dos animais tratados, justificando a escolha das doses utilizadas para os experimentos comportamentais subsequentes (Litchfield and Wilcoxon, 1949; Eaton and Gilbert, 2008).

O teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético baseia-se no fato de que a administração intraperitoneal do ácido acético a 1% provoca irritação dos tecidos dessa área envolvendo a estimulação de nociceptores que gera reações comportamentais, sendo tal efeito nociceptivo caracterizado por contorções abdominais seguidas de extensões dos membros posteriores. Este modelo nos permite avaliar a nocicepção inflamatória visceral e a atividade antinociceptiva de substâncias que atuam tanto em nível central quanto periférico. Embora a especificidade do modelo não seja alta, ele ainda é um dos meios mais utilizados para avaliar possíveis efeitos antinociceptivos de extratos e compostos isolados (Koster; Anderson; Debber, 1959).

O uso de antiinflamatórios é muito comum para tratamento de distúrbios músculo-esquelético e inflamações leves e severas. No entanto, o uso dessas substâncias podem causar alguns efeitos adversos nas células sanguíneas, como anemia aplásica leucopenia e agranulocitose (Ariede et al., 2009). Sendo assim é importante a avaliação do comportamento dessas células quando expostas a agentes terapêuticos. Essa avaliação é comumente realizada em ratos da linhagem Wistar. Os valores de referência desses animais são semelhantes aos valores de referência encontrados nos hemogramas para humanos, com exceção da quantidade de hemácias e de plaquetas, pelo fato de que os ratos possuem uma quantidade maior de ambas as células, por isso motivo esses animais possuem uma rápida coagulação. Os dados hematológicos e bioquímicos de ratos não tratados são de grande valor como ponto de partida para diversos estudos, tais como as avaliações de efeitos farmacológicos e toxicológicos de agentes terapêuticos sobre estes parâmetros (Melo et al., 2012).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DA PESQUISA

A pesquisa foi realizada no Laboratório Unificado de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LUDEM) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), no Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), na Fundação de Apoio a Biotecnologia e Inovação Tecnológica em Saúde (FUNBITS) e no Laboratório de Psicofarmacologia do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

### 4.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *M. ophthalmocentra* foram coletadas em região próxima ao município de Sumé, Paraíba, Brasil (07°40'18" de Latitude Sul, 36°52'48" Longitude Oeste) e os frutos de *A. esculentus* em região próxima ao município de Queimadas, Paraíba, Brasil (7° 23' 57" de Latitude, 36° 03' 35" Longitude Oeste em seguida foram submetidas à secagem em estufa de circulação de ar, a uma temperatura de 40 °C até a obtenção de um teor de umidade constante. A exsicata da *M. ophthalmocentra* encontra-se depositada na coleção do Herbário Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba, Campus I, João Pessoa-PB sob o registro nº 34465/JPB e a exsicata da *A. esculentus* encontra-se depositada na coleção do Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) da Universidade Estadual da Paraíba, Campus I, Campina Grande-PB sob o registro nº 1865/ACAM.

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA

#### 4.3.1 Separação dos pós em diferentes tamanhos de partículas

Após a secagem, as folhas foram moídas em Triturador de Feno Conjugado (TFC 150, Laboremus, Paraíba, Brasil) com malha de 1 mm de diâmetro a fim de obter pós com granulometria de dimensões micrométricas. Para separação em diferentes tamanhos de partículas dos pós obtidos, utilizou-se um separador vibratório (GY- 600 – 35 - A, Guan Yeu Machinery Factory Co., Taiwan, China) com malhas de aço com aberturas de 50, 100, 200 e

400 mesh, respectivamente 297, 149, 74 e 37  $\mu\text{m}$ . As drogas vegetais obtidas foram classificadas em quatro grupos de acordo com sua faixa granulométrica (50-100, 100-200, 200-400 e <400 mesh) e com as seguintes siglas MO01, MO02, MO03 e MO04, respectivamente para as folhas de *M. ophthalmocentra* e AE01, AE02, AE03 e AE04 respectivamente para os frutos de *A. esculentus*. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos com fecho hermético, armazenadas ao abrigo da luz, umidade e temperaturas elevadas. As amostras obtidas foram classificadas de acordo com a granulometria de pós que a Farmacopeia Brasileira V edição estabelece.

#### 4.4 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

##### 4.4.1 Determinação da Composição Mineral das drogas vegetais

As drogas vegetais foram submetidas à análise química por espectrofotômetro de fluorescência de raios X (FRX). As amostras foram preparadas sob a forma de pastilhas sob uma pressão de 150 kN durante 30 segundos. O espectrômetro de fluorescência de raio X determina os elementos presentes nas amostras por raio-X característico emitido pela amostra a partir da excitação primária causada pela radiação Rh Ka. Este ensaio foi realizado em um espectrômetro dispersivo de onda (WDS) FRX 1800 (Shimadzu) no Laboratório de Solidificação Rápida da Universidade Federal da Paraíba.

##### 4.4.2 Análise da Composição Centesimal das drogas vegetais

###### 4.4.2.1 Determinação da Perda por Dessecação

A Farmacopeia Brasileira V (2010) recomenda que este ensaio seja realizado a fim de determinar a quantidade de substâncias voláteis de qualquer natureza. Desta forma uma cápsula de porcelana foi calcinada por 30 min em estufa a 105 °C (Quimis<sup>®</sup>), resfriada em dissecador e pesada com 1 g do pó, em seguida foi novamente submetida à calcinação por 2 h a 105 °C, resfriada e pesada. Este procedimento foi repetido até peso constante da amostra. O percentual de perda por dissecação foi determinado pela seguinte equação:

$$\% \text{ de perda por dissecação} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100$$

Pa: peso da amostra.

Ps: peso da cápsula contendo a amostra após a dissecação.

Pu: peso da cápsula contendo a amostra antes da dissecação.

#### 4.4.2.2 Sais minerais (cinzas)

Quantificados por gravimetria após incineração em forno de mufla, a 550°C. O método se fundamenta na perda de peso que ocorre quando o produto é incinerado a 550°C, com destruição da matéria orgânica, sem decomposição apreciável dos constituintes do resíduo mineral ou por perda de volatilização (Brasil, 2008; Farmacopéia Brasileira, 2010).

#### 4.4.2.3 Lipídios

Determinados utilizando-se extração semicontínua com éter de petróleo em extrator Soxhlet (Brasil, 2008).

#### 4.4.2.4 Proteínas

Realizada segundo o método de Kjeldahl utilizando-se um digestor (marca TECNAL, modelo TE 007A), um destilador (TECNAL, modelo TE036/1) e se aplicando um fator de 6,25 (Brasil, 2008).

#### 4.4.2.5 Carboidratos

O conteúdo de carboidratos totais, incluindo fibras, foi calculado por diferença de 100 com a soma dos percentuais dos demais componentes da composição centesimal, da umidade (perda por dessecação).

#### 4.4.3 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas termogravimétricas dinâmicas, das drogas vegetais, foram obtidas em uma termobalança (TGA-50H, Shimadzu, Japão) em atmosferas de nitrogênio ( $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) e ar sintético ( $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) a uma razão de aquecimento ( $\beta$ ) de  $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  variando de  $35 \text{ }^\circ\text{C}$  até temperatura de  $900 \text{ }^\circ\text{C}$ . Foi utilizada massa de  $5,00 \pm 0,100 \text{ mg}$  acondicionada em cadinho de alumina. A calibração da termobalança foi realizada utilizando oxalato de cálcio monohidratado. As curvas foram analisadas através do software TA 60 WS, da Shimadzu, para caracterizar as etapas de perda de massa (Correia et al., 2016b).

#### 4.4.4 Determinação da Cinética de degradação

A cinética de degradação, das amostras, foi obtida em uma termobalança (TGA-50H, Shimadzu, Japão) em atmosferas de ar sintético ( $20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) nas razões de aquecimento de 5, 10, 20 e  $40^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Com base nos dados obtidos foi aplicado o modelo de Ozawa para determinação dos parâmetros cinéticos, ordem de reação ( $n$ ), fator de frequência ( $A$ ) e energia de ativação ( $E_a$ ). Para determinação desses parâmetros utilizou-se o software TA 60 WS, da Shimadzu.

#### 4.4.5 Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas DTA, das drogas vegetais, foram obtidas em um analisador térmico diferencial (DTA-50, Shimadzu). As amostras foram acondicionadas em cadinho de alumina, utilizando massa de  $5,0 \pm 0,1 \text{ mg}$  e submetidas a análise sob elevação de temperatura de  $35\text{-}900^\circ\text{C}$  com razão de aquecimento  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ , em atmosfera inerte (Nitrogênio) a um fluxo de  $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . A calibração do equipamento foi realizada através do ponto de fusão e entalpia dos padrões de índio e zinco. As curvas térmicas diferenciais foram analisadas usando o programa TASY 50, da Shimadzu (Correia et al., 2016b).

## 4.5 IMPRESSÃO DIGITAL

### 4.5.1 Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas acoplada à Pirólise (GC/EM- Pir)

As análises pirolíticas foram realizadas utilizando um pirolizador (SHIMADZU, Pyr-4A), diretamente acoplado a um sistema de Cromatografia gasosa e Espectrometria de massas (SHIMADZU, GCMS-QP5050A). Foi utilizada uma coluna capilar com fase estacionária fenil: dimetilpolissiloxano (5:95) (com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu$ m de tamanho de partícula). A temperatura da interface inicial foi de 70°C e em seguida ela aumentava 10°C/min até 300°C, permanecendo nessa temperatura por 5 minutos. Utilizou-se como gás de arraste o Hélio a um fluxo de 1,7 mL/min e uma razão de split de 1:5. O Espectrômetro de massas foi configurado para varrer uma faixa de massa entre  $m/z$  50 e 450. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a uma energia 70 e V (Correia et al., 2016b).

Uma quantidade de 2 mg das amostras MO01, MO02, MO03 e MO04 foram colocadas em cadinho de platina, uma para cada amostra, e introduzida uma por vez no pirolizador nas temperaturas de 250, 350 e 450 °C. Estas temperaturas foram selecionadas de acordo com as etapas de termodecomposição visualizadas através de termogravimetria das amostras. Os compostos químicos produzidos nos processos pirolíticos foram identificados através da análise comparativa com os espectros de massa da biblioteca Wiley, 6ª edição para o Class-500 (Correia et al., 2016b).

## 4.6 QUANTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

### 4.6.1 Determinação de polifenóis totais

O método de Folin-Ciocalteu foi utilizado para determinar os polifenóis totais no *Sp*-EtOH utilizando ácido gálico como padrão (Chandra e Mejia, 2004; Chaves et al., 2013; Chaves et al., 2016). Uma amostra foi dissolvida em água com 0,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), deixando em repouso durante 2 minutos. Em seguida, adicionou-se 1 mL de solução de carbonato de sódio a 20% (p / p) e deixou-se em repouso durante 10 minutos. A curva de calibração foi preparada com padrão de ácido gálico em diferentes

concentrações. As amostras foram medidas usando um Espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-Mini 1240, com um comprimento de onda de 757 nm. Os resultados foram expressos como microgramas de ácido gálico / mg de extrato ( $\mu\text{g GAE} / \text{mg extrato}$ ).

#### **4.6.2 Determinação de flavonoides totais**

O método do cloreto de alumínio foi utilizado para determinar o conteúdo de flavonóides utilizando padrão de quercetina (Meda et al., 2005; Chaves et al., 2013; Chaves et al., 2016). Inicialmente, uma alíquota da amostra foi dissolvida em metanol. Em seguida, a amostra foi misturada com solução de cloreto de alumínio (2% em metanol) numa proporção de 1:1 e deixada em repouso durante 10 minutos. A curva de calibração foi preparada com padrão de quercetina em diferentes concentrações. Foi utilizado espectrofotômetro UV-Vis Shimadzu UV-Mini 1240, com um comprimento de onda de 415 nm para analisar a nossa amostra. Os resultados foram expressos como microgramas de quercetina / mg da amostra ( $\mu\text{gQE} / \text{mg de amostra}$ ).

#### **4.6.3 Determinação de taninos condensados**

O conteúdo de taninos condensados foi verificado pelo método descrito por Makkar e Becker, 1993; Chaves et al., 2013; Chaves et al., 2016. Adicionou-se 0,25 ml da amostra a 1,5 ml de uma solução de Vanilina (Sigma-Aldrich) (4% p/v em metanol). Em seguida, adicionou-se 0,75 mL de concentrado de HCl (37%). O conteúdo foi agitado em um banho de água a 30 ° C sem um tempo de 3-4 segundos e posteriormente foi lido em 500nm num espectrofotômetro. O padrão utilizado foi a Catequina (Sigma-Aldrich) em concentrações entre 10 e 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ .

### **4.7 TESTES BIOLÓGICOS**

#### **4.7.1 Animais para os testes**

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos da linhagem suíça, machos e fêmeas, com 2 a 3 meses de idade, pesando entre 25 a 35 g para os testes de Determinação Comportamental Farmacológica e

Determinação da Dose Letal 50% (DL50) e Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético e ratos Wistar machos com 2 a 3 meses de idade, pesando entre 250 a 300 g foram utilizados para pesquisa de alterações hematológicas das drogas vegetais. Ambos os animais foram provenientes do biotério Prof. Dr. George Thomas do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da Universidade Federal da Paraíba.

No biotério, os animais foram alojados em gaiolas de polietileno, mantidos sob condições monitoradas de temperatura de  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , com livre acesso a uma dieta controlada a base de ração tipo pellets (Purina<sup>®</sup>) e água estéril *ad libitum*. Os animais foram mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, sendo a fase clara das 6:00 às 18:00 horas.

#### **4.7.2 Condições Experimentais**

O estudo foi realizado em estrita conformidade com os Procedimentos Operacionais Padrão, no Laboratório de Psicofarmacologia da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, aprovado pelo veterinário, que monitorou frequentemente os animais avaliando todas as condições físicas de saúde. Os experimentos foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética da UFPB em Uso Animal (CEUA) sob número de registro 0106/15.

Os animais receberam ração de laboratório padrão e água estéril *ad libitum* tanto para o período de adaptação (7 dias) quanto durante o ensaio, exceto o período de 12 horas antes do experimento em que o acesso aos alimentos foi restrito. Ao longo dos experimentos, todos os animais receberam cuidados humanos de acordo com o "Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório" preparado pela Academia Nacional de Ciências (Washington, 2010).

#### **4.7.3 Substâncias utilizadas**

Para realizar os testes farmacológicos foram utilizados: ácido acético glacial (Synth, EUA), água destilada, cloridrato de morfina (Merck, EUA), etanol (Vetec, Brasil). Infusão de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* (IMO e IAE) e Extrato Hidroalcoólico de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* (EHMO e EHAE).

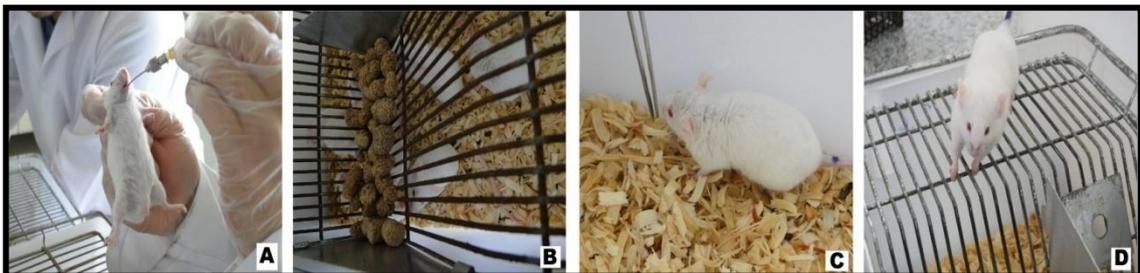
#### 4.7.4 Preparação de amostras

Os extratos hidroalcoólicos de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* (EHMO e EHAE) foram obtidos a 50% (v/v) e as infusões (IMO e IAE) foram obtidas em 5, 10, 15, 20% (droga vegetal / água) das amostras MO02 e AE02. Os extratos hidroalcoólicos foram concentrados em evaporador rotativo a 40 °C para evaporação do solvente.

#### 4.7.5 Triagem comportamental farmacológica e determinação da dose letal 50% (DL50)

Os animais foram divididos em grupos, 6 camundongos em cada grupo, tratados com IMO e IAE a 5, 10, 15, 20% e EHMO e EHAE em concentrações de 2000, 3000 e 4000 mg / kg administrado por via oral (0,1 mL / 10 g) (Figura 1).

FIGURA 1 - A: Administração do extrato em testes. B: Camundongos em caixas após tratamento. C: Teste do reflexo corneal. D: teste da resposta ao aperto da calda.



Fonte: Autor próprio.

Os grupos de animais foram observados durante um período de 04 horas, onde ocorreriam as possíveis alterações farmacológicas no sistema nervoso, tomando como referência os ratos do grupo controle, tratado apenas com água. As anotações referentes a alguma alteração no comportamento foram realizadas aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após os tratamentos, seguido um protocolo experimental padrão de avaliação comportamental (Almeida e Oliveira, 2006).

Os animais ainda eram observados por 24 horas e até completar um período de 14 dias para verificar possíveis mortes e desta forma determinar uma DL50 oral das substâncias em estudo.

#### 4.7.6 Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético

O procedimento seguiu a metodologia descrita por Koster et al., 1959; Collier et al., 1968; La Rocca et al., 2016. Os grupos de camundongos (n = 6, por grupo) foram tratados com doses de, EHMO e EHAE de 2000, 3000 e 4000 mg / kg p.o. e o IMO e IAE 5, 10, 15, 20% e comparado com o controle tratado com água destilada. O padrão positivo utilizado foi a morfina (MOR) a 6 mg /kg, i.p.. Após 30 min. (para o tratamento ip) ou 1 h (para a dose oral), os animais receberam injeção intraperitoneal (ip) de uma solução de ácido acético (0,1 ml /10 g 1% em água destilada v/v) e foram observados individualmente. O tempo de latência do início da primeira contorção foi registrado durante um período de 15 min., E após os primeiros 5 minutos, o número de contorções (Figura 2) exibidas por cada animal também foi registrado.

FIGURA 2 - Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético.



Fonte: Autor próprio.

#### 4.7.7 Avaliação do efeito hemolítico em animais

Ratos Wistar machos foram divididos em sete grupos de 6 animais cada. Todos os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, (47 × 34 × 18 cm). Os animais foram submetidos a duas etapas de experimento. No primeiro dia do experimento (Dia 0) foi coletado 0,5 mL de sangue de todos os animais, a fim de obter a concentração de hemácias de todos os grupos antes de iniciar o tratamento. Em seguida foi administrada uma dose única das substâncias em estudo por via oral.dose das substâncias em estudo (Etapa 1). Sete dias após, uma nova coleta hematológica (Coleta dia 07) foi realizada a fim de avaliar se houve

alguma alteração na concentração de Hemácia dos animais, comparando com a primeira análise realizada com a primeira coleta. Os animais do grupo controle foram tratados apenas com água destilada estéril, o grupo do EHMO foi tratado com extrato hidroalcoólico de *M.ophthalmocentra* em concentrações de 500 e 1000 µg/ml, o grupo EHAE foi tratado com extrato hidroalcoólico de *A. esculentus* em concentrações de 500 e 1000 µg/ml e o grupo do meloxicam foi tratado com suspensão de meloxicam em concentrações de 500 e 1000 µg/ml. A coleta hematológica foi realizada através do corte da ponta da calda, previamente aquecida em banho Maria com temperatura controlada de 40°C. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo EDTA. A concentração de hemácias foi determinada utilizando um analisador hematológico automatizado.

#### **4.7.8 Eutanásia dos animais**

Após os períodos experimentais, os camundongos e ratos foram anestesiados com cloridrato de cetamina (250 mg/kg<sup>-1</sup>) por via intramuscular e cloridrato de xilazina (10 mg/kg<sup>-1</sup>) por via intraperitoneal, em seguida foram eutanasiados por deslocamento cervical. Todos os procedimentos, desde o início do estudo até o momento da eutanásia, foram realizados para evitar o sofrimento, reduzir o deslocamento e a dor dos animais conforme aprovação do comitê de ética animal.

#### **4.7.9 Avaliação da ação hemolítica *in vitro***

Avaliação da ação hemolítica *in vitro* foi realizada em suspensão de hemácias humanas expostas a extratos hidroalcoólicos de *M. ophthalmocentra* (EHMO) e *A. esculentus* (EHAE). As amostras de sangue foram adquiridas através do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba– Brasil.

A análise foi realizada de acordo com o método descrito por Kamble et al., (2017) com adaptações. Uma solução de Alsever composta por 0.8% de citrato de sódio, 2% de dextrose, 0,42% de cloreto de sódio e 0,5% de ácido cítrico foi adicionada em 1mL de sangue total e centrifugado a 3000 rpm por 10 min. O plasma obtido pós centrifugação foi separado e as hemácias foram cuidadosamente utilizadas para preparar uma suspensão a 0,8% v/v com solução salina (0,9%).

Foram utilizadas cinco concentrações de EHMO e EHAE (100, 250, 500, 1000 e 1500  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Em tubos de ensaio contendo 2mL de cada concentração, foram adicionados 2 mL de solução hiposalina (0,18% NaCl) e 0.2 mL da suspensão de hemácias. As amostras foram incubadas a 37 ° C durante 30 min.

Para verificar-se o efeito hemolítico de EHMO e EHAE em locais sem inflamação, testou-se as mesmas concentrações já mencionadas e nas mesmas condições de análise acima descritas, porém, sem adição da solução hiposalina (0,18% NaCl). O efeito hemolítico foi igualmente avaliado pela quantificação do teor de hemoglobina liberada em cada amostra.

O diclofenaco sódico e o Meloxicam, ambos nas concentrações de 20, 40, 60, 80, 100 e 150 $\mu\text{g/mL}$ , foram usados como padrão de comparação. A amostra contendo apenas a suspensão de hemácias e solução hiposalina foi usada como controle.

A concentração da hemoglobina em  $\mu\text{mol mL}^{-1}$  foi calculada a partir da equação da curva-padrão obtida na validação do método para esta pesquisa ( $y=0.4123x+0.002$ ). A leitura das absorbâncias de hemoglobina foi feita no espectrofotômetro UV/VIS BIOCHEMISTRY ANALYZER PLUS – 2018G a 405 nm.

#### 4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados utilizando o método One Way Analysis of Variance (ANOVA) seguido do teste de Fisher, Bonferroni e Tukey para comparações múltiplas de medidas paramétricas. Os dados foram expressos como média  $\pm$  e.p.m (erro padrão da média), e os valores foram considerados significativos quando apresentaram um nível de significância (p) inferior a 0,05.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO TECNOLÓGICA

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), droga vegetal é uma planta medicinal ou suas partes após terem sido submetidas a um processo da coleta, estabilização e secagem, podendo ser utilizadas na íntegra, triturada ou transformadas em pó (ANVISA, RDC nº 10, de 09 de março de 2010). Os pós representam uma forma de administração direta, podendo ser utilizado por meio de infusões, decocções ou macerações, ou como matéria-prima (Garcia et al., 2012).

As drogas vegetais pulverizadas foram obtidas em tamanhos micrométricos, sendo classificadas de acordo com o seu tamanho de partícula da seguinte forma (Tabela 1). Após obtenção das amostras de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* em triturador de Feno Conjugado e a posterior separação dos pós em diferentes tamanhos de partícula, observou-se que as amostras obtidas puderam ser classificadas como pós finos de acordo com a granulometria de pós que a Farmacopéia Brasileira V edição estabelece.

TABELA 1 - Classificação dos tamanhos de partículas micrométrica das amostras obtidas de acordo com a granulometria dos pós de *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth e *Abelmoschus esculentus* Linn.

<i>Abelmoschus esculentus</i>	<i>Mimosa ophthalmocentra</i>	Tamanhos de partículas
Tipos de Amostras		
AE 01	MO 01	300 - 149 µm
AE 02	MO 02	149 - 74 µm
AE 03	MO 03	74 - 37 µm
AE 04	MO 04	Menor que 37 µm

Estes resultados favorecem a qualidade da droga vegetal no quesito da granulometria, uma vez que é de extrema importância a eficácia da pulverização, pois este parâmetro interfere diretamente na interação da droga com o solvente utilizado na obtenção de tinturas, extratos ou outras preparações intermediárias (ALVES et al., 2010). A diferença da qualidade da granulação de vegetais pode ser diretamente atribuída aos fatores operacionais ligados ao tipo de moinho, às características originais da amostra e a parte da planta utilizada,

pois comparando a pulverização de folhas e de caules foi observado que as folhas, por serem mais finas e macias que os caules, favoreciam a redução do tamanho de partícula (BARNI et al., 2009).

### 5.1.1 Determinação da composição mineral

Na determinação da Composição mineral foi possível detectar o percentual de Cálcio, Potássio, Cloro, Enxofre, Ferro, Magnésio, Fósforo e Silício (Tabela 2 e 3). Em todas as amostras de *M. ophthalmocentra* o Cálcio foi o mineral presente em maior concentração, seguido pelos elementos Potássio e Ferro. A variação de concentração dos mesmos elementos entre as diferentes amostras não se mostrou significativa (Tabela 2).

TABELA 2 - Composição mineral das drogas vegetais obtidas dos frutos de *Mimosa ophthalmocentra* em diferentes tamanhos de partículas.

Amostra	Composição mineral (%)							
	Ca	K	Cl	S	Fe	Mg	P	Si
<b>M01</b>	68,4	15,5	1,6	3,8	7,1	1,7	0,5	1,0
<b>M02</b>	63,3	15,9	1,5	3,6	7,1	1,6	0,5	1,1
<b>M03</b>	66,9	15,7	1,5	3,5	6,8	1,8	0,5	1,8
<b>M04</b>	68,4	15,5	1,6	3,8	7,1	1,7	0,5	1,0

Em todas as amostras de *A. esculentus* o Cálcio também foi o mineral presente em maior concentração, seguido pelos elementos Potássio e Cloro. A variação de concentração dos mesmos elementos entre as diferentes amostras não se mostrou significativa (Tabela 3).

TABELA 3 - Composição mineral das drogas vegetais obtidas dos frutos de *Abelmoschus esculentus* L. em diferentes tamanhos de partículas.

Amostra	Composição mineral (%)							
	Ca	K	Cl	S	Fe	Mg	P	Si
<b>AE01</b>	48,3	28,8	15,6	3,2	1,1	1,1	1,0	0,6
<b>AE02</b>	46,8	27,5	18,5	3,0	1,3	1,2	1,0	0,5
<b>AE03</b>	46,3	29,4	16,7	3,0	2,0	1,1	1,0	0,4
<b>AE04</b>	46,7	27,1	17,6	2,9	2,2	1,3	1,0	0,7

Mota et al., 2008, relatam em sua revisão que o Cálcio é o nutriente mais associado a qualidade dos frutos em geral, uma vez que ele atua no aumento da firmeza e textura do fruto, previne a deterioração causada por microorganismos e retarda a senescência. Entretanto, os mesmos autores relatam que altas concentrações de Potássio presentes nos frutos podem acelerar o processo de deterioração, uma vez que ele atua como ativador enzimático causando degradação de compostos orgânicos. Nos vegetais frescos o Potássio é o cátion mais abundante, afetando diretamente no produto colhido, quanto ao rendimento e a qualidade. Frutos frescos de *A. esculentus* L. apresentam uma maior quantidade de Potássio em relação à quantidade de Cálcio (Sousa, Lima, Lima 2015), entretanto após secagem, o presente estudo mostrou uma redução na concentração de potássio e a concentração de cálcio no material seco foi bem maior em relação ao potássio, conforme tabela 3, mantendo assim uma maior estabilidade do fruto seco. Registros na literatura não foram encontrados quanto a composição mineral de *M. ophthalmocentra* e de plantas da mesma família.

### **5.1.2 Composição Centesimal das drogas vegetais**

A determinação da perda por dessecação de drogas vegetais está ligada à estabilidade microbiológica e química do material. Dependendo do teor de umidade o vegetal pode estar susceptível ao desenvolvimento de fungos e bactérias e ações enzimáticas podem acarretar a degradação de constituintes químicos (Borges et al. 2005). Além disso, sob o ponto de vista tecnológico e de produção, conhecer quantitativamente o conteúdo de água é importante para os cálculos de rendimento final (Costa et al., 2009; Alves et al., 2010). A Farmacopeia Brasileira V edição (2010) estabelece que o teor máximo de umidade pode variar de 8 a 14%.

Os resultados apresentados na Tabela 4 referente à umidade de *A. esculentus* mostram que o percentual variou de acordo com o tamanho de partícula, sendo o maior tamanho o mais próximo da faixa estabelecida pela Farmacopéia Brasileira e os menores tamanhos com cerca de 3% a mais do que o recomendado. O resultado de uma elevada umidade pode ser devido ao tipo de material estudado de *A. esculentus*, que neste caso foram os frutos, parte da planta que mais apresenta água. Dessa forma, embora as amostras de *A. esculentus* tenham apresentado umidade apenas 3% fora do recomendado, é importante que suas características sejam avaliadas antes de sua utilização. As amostras de *M. ophthalmocentra* apresentaram teores de umidade (Tabela 4) dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopéia citada.

TABELA 4 - Teor de cinzas e umidade das drogas vegetais de *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth e *Abelmoschus esculentus* Linn.

Drogas Vegetais	Parâmetros Físico-Químicos	
	Cinzas (%) ± Dp	Umidade (%) ± Dp
MO 01	5,27 ± 0,01	12,2 ± 0,84
MO 02	4,58 ± 0,06	12,2 ± 0,56
MO 03	4,85 ± 0,05	12,7 ± 0,07
MO 04	4,93 ± 0,11	12,8 ± 0,00
AE 01	7,90 ± 0,00	15,16 ± 0,70
AE 02	8,34 ± 0,69	15,23 ± 0,64
AE 03	8,50 ± 0,07	17,03 ± 1,26
AE 04	8,52 ± 0,07	17,83 ± 0,94

A determinação de cinzas totais de drogas vegetais permite a quantificação de resíduos não voláteis, de caráter inorgânico pertencente ao próprio material, e são úteis para avaliar a pureza das amostras. Dependendo da parte do vegetal que está sendo avaliada e das condições higiênicas que elas foram coletadas, as amostras podem conter contaminantes como resíduo de terra ou areia que podem ser detectados na determinação de cinzas totais (Barni et al., 2009; Alves et al., 2010). Os resultados encontrados na determinação do teor de cinzas totais de *M. ophthalmocentra* e de *A. esculentus* foram baixos, mostrando que as amostras apresentaram um bom grau de pureza, pois a Farmacopéia Brasileira estabelece em diversas monografias de drogas vegetais que a quantidade de cinzas deve ser abaixo de 14% (Marques et al., 2012). Este resultado pode ser justificado pelo fato de que a parte de ambas as plantas estudadas são aéreas e foram coletadas seguindo parâmetros de boas práticas de manipulação.

A Composição centesimal de matérias-primas, sejam elas drogas vegetais ou não, dependem de diversos fatores, tais como a origem do material, da manipulação e do tratamento, entre outros fatores. Os carboidratos, os lipídios e as proteínas são metabólitos primários essenciais para o crescimento, desenvolvimento e para a manutenção das células. Os resultados da composição centesimal das amostras de *M. ophthalmocentra* e de *A. esculentus* encontram-se dispostos na Tabela 5.

TABELA 5 - Composição centesimal das drogas vegetais de *Mimosa ophthalmocentra* Mart ex Benth e *Abelmoschus esculentus* Linn.

Drogas Vegetais	Composição Centesimal (%)			
	Carboidratos ± Dp	Lipídeos ± Dp	Proteínas ± Dp	Sólidos (%)
MO 01	61,28 ± 0,23	4,65 ± 1,74	16,00 ± 0,24	87,8 ± 0,84
MO 02	60,52 ± 0,58	4,91 ± 0,93	17,39 ± 0,13	87,8 ± 0,56
MO 03	56,23 ± 0,06	9,21 ± 0,35	16,96 ± 0,21	87,3 ± 0,07
MO 04	58,81 ± 0,15	6,96 ± 0,61	16,50 ± 0,08	87,2 ± 0,00
AE 01	57,75 ± 0,26	2,35 ± 0,47	16,84 ± 0,13	84,83 ± 0,70
AE 02	58,08 ± 0,38	1,72 ± 0,01	16,67 ± 0,05	84,76 ± 0,64
AE 03	57,57 ± 0,07	1,35 ± 0,39	15,55 ± 0,03	82,96 ± 1,26
AE 04	56,38 ± 0,04	1,39 ± 0,09	15,88 ± 0,67	85,50 ± 0,36

As amostras de ambas as plantas, apresentaram uma grande quantidade de carboidratos, substância também conhecida como glicídios ou açúcares, que são essenciais para os seres vivos, pois além de servirem como fonte de energia, faz parte da constituição de várias estruturas importantes e no caso dos vegetais ainda são os precursores de todos os demais metabólitos.

A presença de lipídeos nas plantas auxilia na impermeabilização das folhas, pétalas e frutos, impedindo a perda de água do vegetal para o meio, principalmente através da vaporização e impedem o crescimento microrganismos (Peres, 2015). Partindo desse princípio, observa-se que o fato da umidade dos pós de ambas as plantas terem sido relativamente baixas em comparação com a quantidade de sólidos presentes nas amostras (Tabela 5), justifica a pouca quantidade de lipídios nas mesmas (Tabela 4), uma vez que se essa concentração tivesse sido alta o processo de secagem poderia ter sido prejudicado.

Com relação às proteínas, as amostras de *M. ophthalmocentra* e de *A. esculentus* apresentaram concentrações próximas a 16% (Tabela 5). Esta concentração é importante para o desempenho das funções de metabólitos secundários presente nas plantas, pois compostos como, por exemplo, os taninos podem se complexar com moléculas de proteínas e desenvolverem uma melhor atividade protetora contra pragas e doenças (Peres, 2015).

A determinação da composição centesimal de drogas vegetais é de fundamental importância, uma vez que agregar o valor nutricional ao valor terapêutico pode fornecer subsídio para o desenvolvimento de um produto nutricional e farmacêutico, os chamados Nutracêuticos. Desta forma observa-se que as amostras vegetais estudadas apresentam valores nutricionais significativos por serem relativamente ricos em metabólitos primários, principalmente de Carboidratos, o que incentiva o avanço desta pesquisa na busca de metabólitos secundários presentes nesses vegetais.

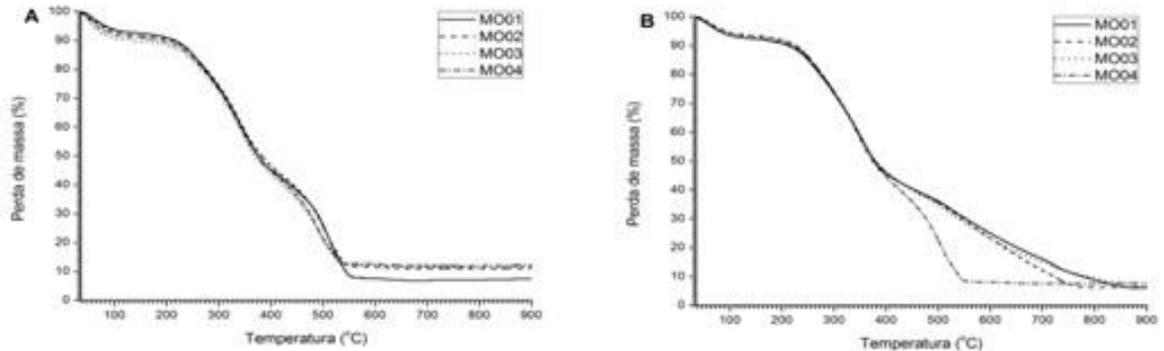
## 5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS AMOSTRAS

### 5.2.1 Análise Termogravimétrica (TG)

A termogravimetria é uma técnica analítica com sensibilidade, boa reprodutibilidade e fornece rápida resposta com relação à estabilidade térmica de uma amostra (Silva -Junior et al., 2006). Alguns autores têm utilizado as técnicas termoanalíticas na caracterização de matérias-primas vegetais afim de avaliar o seu comportamento e as principais temperaturas em que ocorrem decomposição da matéria (Silva-Júnior et al., 2006; Camelo, 2009; Costa et al., 2011; Gomes, 2011; Correia et al., 2013; Santos et al., 2013; Santana, 2014; Holanda Neto, 2013).

As drogas vegetais de *A. esculentus* e de *M. ophthalmocentra* em diferentes tamanhos de partícula foram submetidas à análise termogravimétrica para analisar o seu perfil de degradação térmica. A decomposição térmica das amostras provenientes das folhas de *M. ophthalmocentra* ocorreu em seis etapas quando submetidas a atmosferas oxidativa (ar sintético) e inerte (nitrogênio) (Figura 3A e B).

FIGURA 3 - Curvas TG das Drogas vegetais, obtidas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth., em diferentes tamanhos de partículas na razão de 10°C/min em Ar sintético (A) e Nitrogênio (B).



Fonte: Autor próprio.

Em atmosfera oxidativa o primeiro evento de decomposição térmica das amostras ocorreu nos intervalos de temperaturas de 35-91,60, 35-88,96, 35 – 77,00 e 35-80,83°C, com as seguintes perdas de massas 5,76; 5,56; 7,54 e 6,80%, para as amostras MO01, MO02, MO03, e MO04, respectivamente. O mesmo evento foi observado quando as drogas vegetais foram submetidas a atmosfera inerte, nas faixas de temperaturas 35-93,37, 35-93,49, 35-91,59 e 35-92,02°C com perdas de massa de 5,87, 5,56, 5,22 e 6,03% para as amostras MO01, MO02, MO03, e MO04, respectivamente. Observa-se que em ambas as atmosferas a decomposição inicia-se em temperaturas semelhantes e com perdas de massas equivalentes. A segunda etapa de decomposição térmica das amostras ocorreu em temperaturas um pouco menor na atmosfera oxidativa quando comparada com a temperatura em atmosfera inerte. Na atmosfera oxidativa o processo térmico ocorreu no intervalo de 77 a 220°C com perda de massa em torno de 4% enquanto que na atmosfera inerte o intervalo foi de 91 a 235°C com aproximadamente 5% de perda de massa. As duas etapas estão relacionadas com a perda de voláteis das drogas vegetais (água e óleos essenciais), uma vez que os eventos ocorrem nas faixas de vaporização dessas substâncias (Fernandes et al, 2013; Correia et al., 2013).

A terceira etapa em atmosfera oxidativa apresentou perda de massa nas drogas vegetais MO01, MO02, MO03, e MO04 nas faixas de temperaturas 219,01 – 298,25, 226,28 – 318,32, 228,42 – 323,41 e 234,41 – 298,66°C com perdas de 16,64, 21,13, 22,31 e 14,61% respectivamente. Na atmosfera inerte a terceira etapa ocorreu nas faixas de temperaturas de 218,78 – 307,39, 195,18 – 257,46, 197,41 – 290,95 e 204,15 – 241,73 com perdas de 18,09, 6,79, 14,10 e 3,83% para as amostras MO01, MO02, MO03, e MO04, respectivamente. Sendo

assim, observa-se que quando as amostras são submetidas a atmosfera oxidativa a perda de massa ocorre em temperatura um pouco maior e de forma mais intensa, constatando um percentual maior de perda. Perdas nesta faixa de temperatura pode ser característica de decomposição de macro e micro componentes, ou seja, metabólitos secundários não voláteis, presentes na composição das amostras (Francioso et al., 2007).

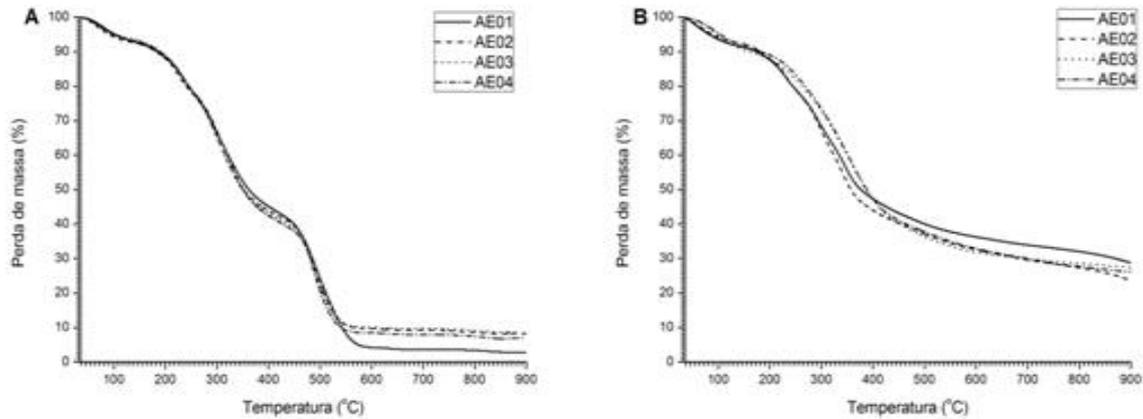
A etapa de decomposição em que houve maior perda de massa foi a quarta etapa para todas as drogas vegetais analisadas tanto em atmosfera oxidativa quanto inerte. Porém as perdas de massas na atmosfera oxidativa variaram entre as amostras em 24 a 32% na faixa de temperatura de 298 a 402°C, sendo a amostra MO03 a que teve menor perda de massa e a MO01 a que teve maior perda de massa. E em atmosfera inerte as perdas de massas das amostras variaram em 23 a 27% entre as amostras na faixa de temperatura de 240 a 384°C sendo a amostra MO01 com a menor perda de massa e a MO04 com maior perda de massa. Nessa etapa pode-se dizer que inicia-se uma decomposição térmica de hidratos de carbono e outros compostos orgânicos (Costa et al, 2013).

O dois últimos eventos também apresentam grandes perdas de massa em ambas atmosferas analisadas. O quinto evento ocorre na faixa de temperatura de 370 – 483°C com cerca de 17 a 23% de perda de massa na atmosfera oxidativa e na faixa de temperatura de 377 – 614°C com cerca de 16 a 22% de perda de massa na atmosfera inerte. O sexto evento representa a continuidade do processo de decomposição com formação de resíduo mineral no final. Esse evento ocorre na faixa de temperatura 462 – 551°C em atmosfera oxidativa com perda de massa variando de 16 – 22% e em atmosfera inerte ocorre na faixa de temperatura 488 – 816°C com perda de massa variando entre 14 – 18%. Observa-se que o sexto evento ocorre em temperaturas mais elevadas quando as amostras são submetidas a análise em atmosfera inerte porém com menor perda de massa, enquanto que em atmosfera oxidativa a etapa tanto ocorre em temperaturas menores quanto com uma mais intensidade na decomposição.

A quantidade do resíduo mineral detectado foi de 7,79, 7,18, 8,73 e 8,71%, para as amostras MO01, MO02, MO03 e MO04 respectivamente, na atmosfera oxidativa e de 8,65, 13,24, 13,13, 13,12% para as amostras MO01, MO02, MO03 e MO04 respectivamente, na atmosfera inerte. Observa-se então que em atmosfera oxidativa as degradações das amostras ocorreram no geral de forma mais intensa, produzindo assim menos resíduo quando comparada com a atmosfera inerte.

A decomposição térmica das amostras provenientes dos frutos de *A. esculentus* ocorreu em seis etapas quando submetidas a atmosferas oxidativa (ar sintético) e inerte (nitrogênio) (Figura 4A e B).

FIGURA 4 - Curvas TG das Drogas vegetais, obtidas de *Abelmoschus esculentus* Linn em diferentes tamanhos de partículas na razão de 10°C/min em Ar sintético (A) e Nitrogênio (B).



Fonte: Autor próprio.

Em atmosfera oxidativa o primeiro evento de decomposição térmica das amostras de *A. esculentus* ocorreu nos intervalos de temperaturas de 35-132,43, 35-101,73, 35-100,26, 35-109,07°C, com perdas de massas de 6,92, 5,78, 4,71 e 5,68% para as amostras AE01, AE02, AE03 e AE04 respectivamente. O mesmo evento foi observado quando as drogas vegetais foram submetidas a atmosfera inerte, nas faixas de temperaturas 35-80,64, 35-84,35, 35-81,98 e 35-80,21°C com perdas de massa de 5,78, 5,47, 5,98 e 5,68% para as amostras AE01, AE02, AE03 e AE04 respectivamente. Observa-se que em ambas as atmosferas a decomposição inicia-se em temperaturas semelhantes e com perdas de massas equivalentes. A segunda etapa de decomposição térmica das amostras ocorreu em temperaturas um pouco maior em atmosfera oxidativa quando comparada com a temperatura em atmosfera inerte uma vez que na atmosfera oxidativa o processo térmico ocorreu no intervalo de 100 a 190°C com perda de massa em torno de 4,5% enquanto que na atmosfera inerte o intervalo foi de 80 a 105°C com aproximadamente 4,0% de perda de massa. Como citado anteriormente as duas etapas estão relacionadas com a perda de voláteis das drogas vegetais (água e óleos essenciais), uma vez que os eventos ocorrem nas faixas de fusão e vaporização dessas substâncias (Fernandes et al, 2013; Correia et al., 2013). A terceira etapa em atmosfera oxidativa apresentou perda de massa nas drogas vegetais AE01, AE02, AE03 e AE04 nas

faixas de temperaturas 199.33-235.33, 194.47-242.64, 188.75-242.01, 197.12-234.26, 190.11-232.82°C com perdas de 9.26, 9.58, 7.45 e 8.32% respectivamente. Na atmosfera inerte a terceira etapa ocorreu nas faixas de temperaturas de 110,54 – 215,12, 116,03 – 264,52, 114,95 – 215,91 e 115,67 –142,05 com perdas de 9,0, 8,64, 8,56, 8,96% para as amostras AE01, AE02, AE03 e AE04 respectivamente. Perdas nesta faixa de temperatura também podem ser característica de decomposição de macro e micro componentes, ou seja, metabólitos secundários não voláteis, presentes na composição das amostras (Francioso et al., 2007).

As perdas de massas da quarta etapa na atmosfera oxidativa variaram entre as amostras em 13 a 15% na faixa de temperatura de 232 a 292°C. E em atmosfera inerte as perdas de massas das amostras variaram em 6 a 11% entre as amostras na faixa de temperatura de 245 a 300°C. Nessa etapa pode-se dizer que inicia-se uma decomposição térmica de hidratos de carbono e outros compostos orgânicos (Costa et al, 2013). O quinto evento ocorre na faixa de temperatura de 293 – 366°C com cerca de 24 a 28% de perda de massa na atmosfera oxidativa e na faixa de temperatura de 300 a 395°C com cerca de 6 a 8% de perda de massa na atmosfera inerte. O sexto evento ocorre na faixa de temperatura 367 – 467°C em atmosfera oxidativa com perda de aproximadamente 18% e em atmosfera inerte ocorre na faixa de temperatura 395 a 500°C com perda de massa variando entre 8 a 10%, essa etapa representa a continuidade do processo de decomposição com formação de resíduo mineral no final.

A quantidade do resíduo mineral detectado foi de 7,56, 9,63, 9,02 e 7,84% na atmosfera oxidativa e de 28,48 29,75, 24,67, 27,33% na atmosfera inerte para as amostras AE01, AE02, AE03, e AE04 respectivamente. Observam-se mais uma vez que em atmosfera oxidativa as degradações das amostras ocorreram no geral de forma mais intensa, produzindo menos resíduo mineral.

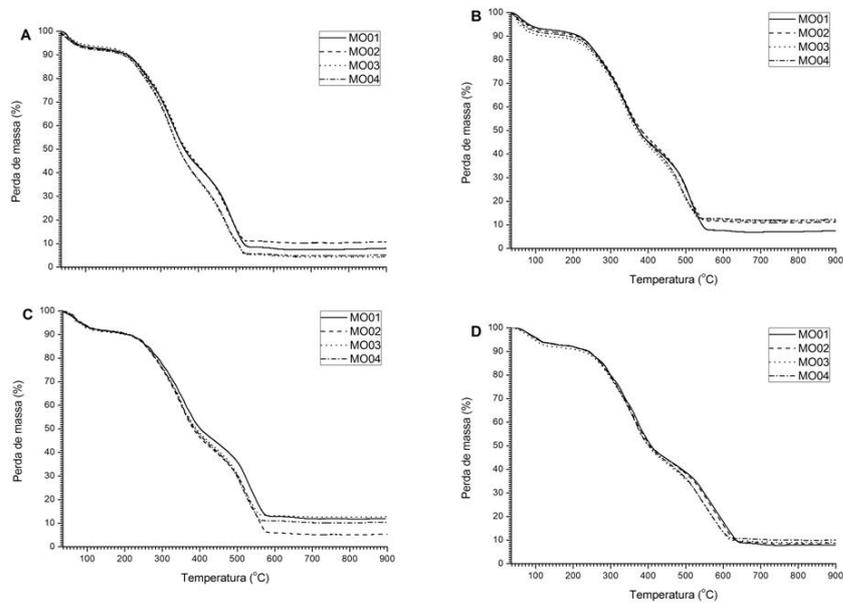
### **5.2.2 Determinação da Cinética de degradação**

As drogas vegetais de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* em diferentes tamanhos de partículas também foram submetidas a análises termogravimétricas nas razões de aquecimento 40, 20, 10 e 5°C/min em atmosfera oxidativa (Ar sintético) para calcular os parâmetros da cinética de degradação pelo método de Ozawa.

Todas as amostras analisadas de *M. ophthalmocentra* (MO01, MO02, MO03 e MO04) apresentaram seis etapas de decomposição térmica (Figura 5). Entretanto foi

observado um aumento da temperatura inicial de cada evento em função da razão de aquecimento.

FIGURA 5 - Curvas TG da droga vegetal obtida das folhas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas.



Fonte: Autor próprio.

Na primeira etapa evidenciada nas análises, na faixa de temperatura de 77 a 127°C, as perdas de massa foram semelhantes entre as amostras, variando de 4 a 7% de perda, porém na razão de 5°C/min observou-se que todas as amostras apresentaram menor perda de massa independente do tamanho de partícula. As amostras MO01 e MO02 tiveram maior liberação na razão de 40°C/min, enquanto que as amostras MO03 e MO04 tiveram maior liberação de compostos voláteis e água livre na razão de 10°C/min. Na segunda etapa, que ocorre entre 80 – 250°C, observou-se uma pequena perda de massa das amostras, cerca de 2 a 5%.

Na terceira etapa observa-se uma perda de massa mais intensa do que nos eventos anteriores, onde algumas amostras perderam cerca de 19% de sua massa. A amostra MO01 foi a amostra que apresentou maior degradação de compostos nesse evento variando de 14,76 a 19,46% de perda enquanto que a amostra MO04 perdeu apenas cerca de 4 a 6%. Essa etapa ocorreu entre 200 e 330°C e representa a principal etapa, uma vez que inicia-se a degradação dos compostos orgânicos, das macromoléculas e micromoleculares. Sendo assim, a terceira etapa foi a escolhida para calcular os parâmetros da cinética de degradação pelo método de Ozawa e os dados referentes a essa etapa estão descritos nas Tabelas 6.

TABELA 6 - Parâmetros de decomposição da principal etapa de degradação das amostras obtidas da folhas da *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. L.

Amostras	Razão de aquecimento (°C/min.)	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Perda de massa (%)
<b>MO01</b>	5	219,43	290,13	14,76
	10	218,78	307,39	18,09
	20	239,51	319,49	18,12
	40	246,11	326,08	19,46
<b>MO02</b>	5	192,37	247,45	6,76
	10	195,18	257,46	6,79
	20	220,72	267,73	6,58
	40	217,02	283,32	8,07
<b>MO03</b>	5	216,06	296,11	19,46
	10	197,41	290,95	14,1
	20	203,74	272,56	7,85
	40	211,92	285,26	8,5
<b>MO04</b>	5	203,63	240,83	5,69
	10	204,15	241,73	3,83
	20	197,6	251,38	4,46
	40	215,64	269,5	5,57

A etapa 4 e 5 de decomposição representa a continuação da decomposição das substâncias que iniciaram sua decomposição na terceira etapa. Na quarta etapa as maiores perdas de massas visualizadas nessas análises, em todas as amostras e razões de aquecimento, ocorreram na quarta etapa, onde as amostras tiveram de 21 a 37% de degradação. A maior perda de massa foi obtida da amostra MO04 quando submetida na razão de aquecimento de 5 °C/min, sendo essa perda de massa igual a 37% ocorrendo entre as temperaturas de 240,83°C a 356,54°C. Essa maior perda de massa pode estar associada à presença de uma quantidade maior de constituintes químicos degradáveis nessa faixa de temperatura. Observa-se também que essa amostra (MO04) apresentou as maiores perdas de massa nas demais razões de aquecimento quando comparada as outras amostras. A etapa 5 ocorre entre 350 e 500°C,

variando uma perda de massa de 14 e 22%, sendo a amostra MO01 na razão de aquecimento de 5 °C/min a que teve menor perda de massa e a amostra MO02 na razão de aquecimento de 10°C/min a que teve maior perda de massa. A sexta etapa de decomposição, finaliza a decomposição das substancias presentes nesse vegetal na faixa de temperatura de 440 a 615°C com perda de massa variando entre 18 e 25%.

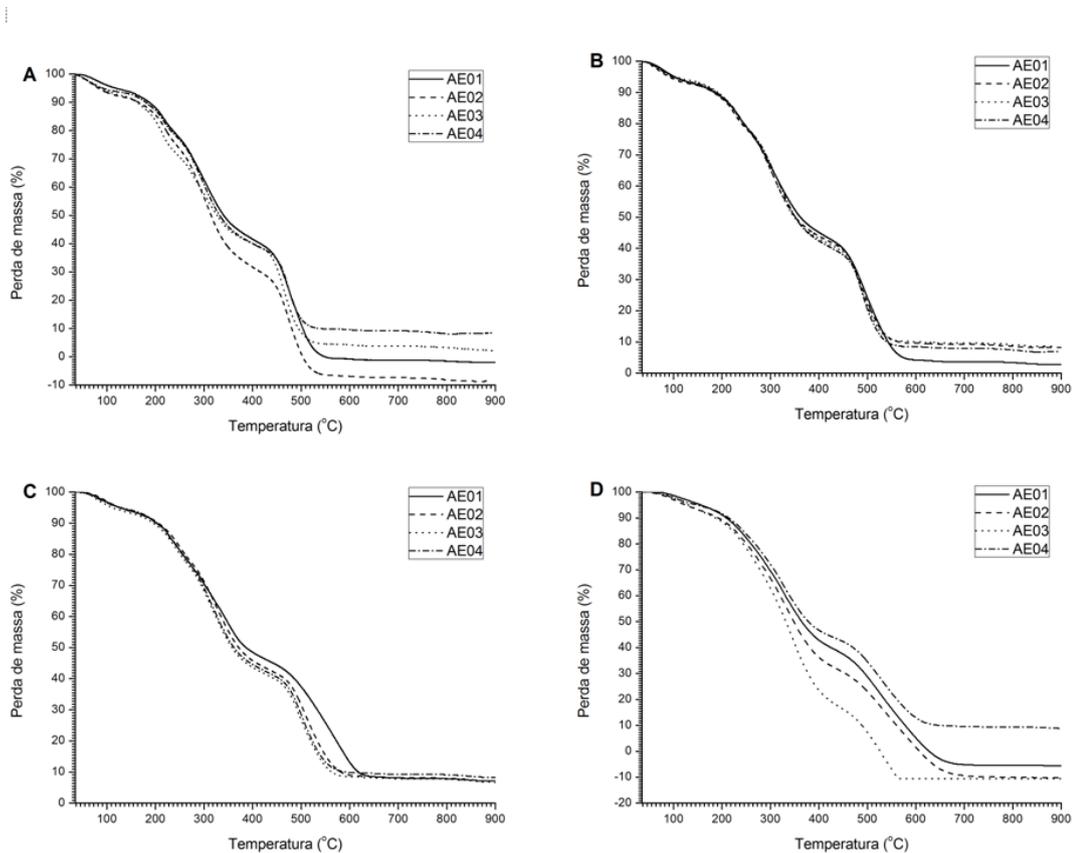
A decomposição térmica de todas as amostras de *M. ophthalmocentra* apresentou uma mesma ordem de reação (Tabela 07). Foi observado que o valor da energia de ativação diminuiu com a diminuição do tamanho de partícula. Esses resultados corroboram com os dados obtidos nos estudos de Correia et al., 2016a,b; Brandão et al., 2016 e Guimarães et al., 2017. Alguns autores relatam que a energia de ativação é a energia mínima necessária para que ocorram reações químicas em uma determinada amostra, inclusive essas reações podem ser de quebra de macromoléculas (Pan et al, 2015; Pugazhenthii e Kativa et al, 2014). Correia et al., 2013 relataram que as amostras de pós com tamanhos de partículas menores apresentam uma maior área superficial e assim são mais instáveis, necessitando de uma menor energia de ativação para que ocorram as reações de termod decomposição.

TABELA 7 - Parâmetros cinéticos de degradação térmica das drogas vegetais obtidas das folhas da *Mimosa ophthalmocentra*.

PARÂMETROS CINÉTICOS			
Amostras	Energia de ativação (kJ.mol <sup>-1</sup> )	Ordem de reação	Fator de frequência (min <sup>-1</sup> )
MO 01	147,38	0	1,344 x10 <sup>12</sup>
MO 02	141,00	0	2,245 x10 <sup>12</sup>
MO 03	135,05	0	2,252 x10 <sup>11</sup>
MO 04	113,55	0	2,670 x10 <sup>11</sup>

Todas as amostras analisadas de *A. esculentus* L. (AE01, AE02, AE03 e AE04) apresentaram sete etapas de decomposição térmica (Figura 6). Entretanto foi observado um aumento da temperatura inicial de cada evento em função da razão de aquecimento.

FIGURA 6 - Curvas TG da droga vegetal obtida dos frutos de *Abelmoschus esculentus* Linn. em diferentes tamanhos de partículas.



Fonte: Autor próprio.

A primeira e a segunda etapa ocorreram entre 35 e 200°C em todas as amostras, com perda de 12% da sua massa total. Essa perda de massa nessa temperatura pode ser atribuída à perda de água livre, água ligada e voláteis, uma vez que estudos relatam que esses elementos se degradam e evaporam nessa faixa de temperatura (Storpiritis et al., 2009). Esse percentual de aproximadamente 12% de perda de umidade está dentro dos parâmetros estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira V edição, uma vez que a mesma relata que uma droga vegetal seca apresenta limites de umidade aceitável entre 8-14% (Brasil, 2010).

A terceira etapa de decomposição térmica começou próximo de 200 °C, com perda de massa variando entre as amostras e as razões de aquecimento. As amostras de AE01, AE02 e AE04 perderam 7.50-11.10% de massa nas quatro razões de aquecimento, enquanto a amostra de AE03 perdeu 20.64% da sua massa na razão de aquecimento de 40 °C min<sup>-1</sup> e nas outras razões perdeu 6.97-7.9%. Esta etapa de decomposição pode caracterizar o início da degradação térmica de micro e macro componentes da amostra, tais como proteínas e grupos

carboxílicos, por isso também é considerada a principal etapa de decomposição e usada para calcular os parâmetros da cinética de degradação pelo método de Ozawa e os dados referentes a essa etapa estão descritos nas Tabelas 8 (Francioso et al., 2007).

TABELA 8 - Parâmetros de decomposição da principal etapa de degradação das amostras obtidas dos frutos de *Abelmoschus esculentus* Linn.

<b>Amostras</b>	<b>Razão de aquecimento (°C/min.)</b>	<b>Temperatura inicial (°C)</b>	<b>Temperatura final (°C)</b>	<b>Perda de massa (%)</b>
<b>AE01</b>	5	267.15	345.43	24.50
	10	292.33	366.02	19.60
	20	325.20	377.30	13.16
	40	327.83	380.42	15.62
<b>AE02</b>	5	271.64	346.85	27.28
	10	274.61	354.01	23.97
	20	284.54	365.01	23.79
	40	300.57	383.47	28.99
<b>AE03</b>	5	265.44	335.61	23.51
	10	274.77	347.73	23.69
	20	286.26	369.26	25.38
	40	320.48	376.09	24.07
<b>AE04</b>	5	269.92	329.81	21.22
	10	273.51	352.99	25.04
	20	288.08	358.63	22.71
	40	295.65	375.77	24.57

A quarta etapa de decomposição, que pode ser caracterizada pela degradação contínua dos componentes orgânicos da terceira etapa, ocorreu na faixa de temperatura 200-300 °C. Nesta fase, a amostra de AE01 perdeu 8.78-16.64% e observou-se que a perda de massa aumentou em função da razão de aquecimento. Nas amostras AE02 e AE03, houve uma maior perda de massa na razão de aquecimento de 5 e 40 °C min<sup>-1</sup> (10.44-10.04%). Os valores de perda de massa na razão de aquecimento de 10 e 20 °C min<sup>-1</sup> foram 6.12 e 6.29%, respectivamente. As perdas de massa da amostra de AE04 foram semelhantes em todas as razões de aquecimento (aproximadamente 8%). A quinta etapa de decomposição ocorreu na

faixa de temperatura de 260-400 °C, com maiores perdas de massa que as etapas anteriores. Este evento é provavelmente associado com a decomposição térmica de carboidratos e outros compostos orgânicos presentes nestas drogas vegetais. Os valores de perda de massa (24-29%) foram semelhantes às amostras nas diferentes razões de aquecimento, com exceção da amostra AE01, onde a maior perda de massa (24%) ocorreu na razão de aquecimento de 5 ° C min<sup>-1</sup> e nas outras razões de aquecimento, a perda de massa para esta amostra foi de 13-19%.

A sexta etapa de decomposição, quando provavelmente começa a decomposição de compostos com anéis aromáticos (Francioso et al., 2007), ocorreu na faixa de temperatura 300-500 °C. A amostra AE01 perdeu 10.02-13.68% da massa e os valores mais elevados foram observados nas razões de aquecimento de 5 e 40 ° C min<sup>-1</sup>. Para as amostras AE02 e AE04, observou-se que a perda de massa diminuiu à medida que a razão de aquecimento aumenta, perdendo entre 10.60-15.20% (AE02) e 10.24-16.88% (AE04). A perda de massa da amostra de AE03 variou nas razões de aquecimento, perdendo 10.60-15.21% da massa. A sétima fase de decomposição iniciou próximo de 440 °C, terminando em cerca de 700 °C. Este estágio apresentou os maiores valores decomposição, variando entre amostras e razões de aquecimento, com valores entre 20.69-30.41%. Nesta fase ocorre provavelmente a combustão total dos hidrocarbonetos remanescentes e a neutralização residual dos passos anteriores (Francioso et al., 2007).

O modelo cinético de Ozawa foi aplicado aos dados apresentados na tabela 8 referentes ao terceiro evento de decomposição térmica, uma vez que ele marcou o início da decomposição de compostos orgânicos.

A decomposição térmica de todas as amostras apresentou como uma reação de ordem zero e a energia de ativação (E<sub>a</sub>) e o fator de frequência (A) variaram entre os diferentes tamanhos de partículas estudados (Tabela 09). Correia et al., 2016a,b, Brandão et al., 2016 e Guimarães et al., 2017 também aplicaram o modelo de Ozawa ao estudarem drogas vegetais de diferentes tamanhos de partículas e observaram uma reação de ordem zero e com energia de ativação maior quanto maior fosse o tamanho da partícula da droga vegetal, sugerindo que as drogas vegetais com tamanhos de partícula maiores necessitam de mais energia para promoverem os eventos entálpicos relacionados a sua decomposição térmica, dados estes semelhantes ao encontrado nos parâmetros de *A. esculentus* (Tabela 09).

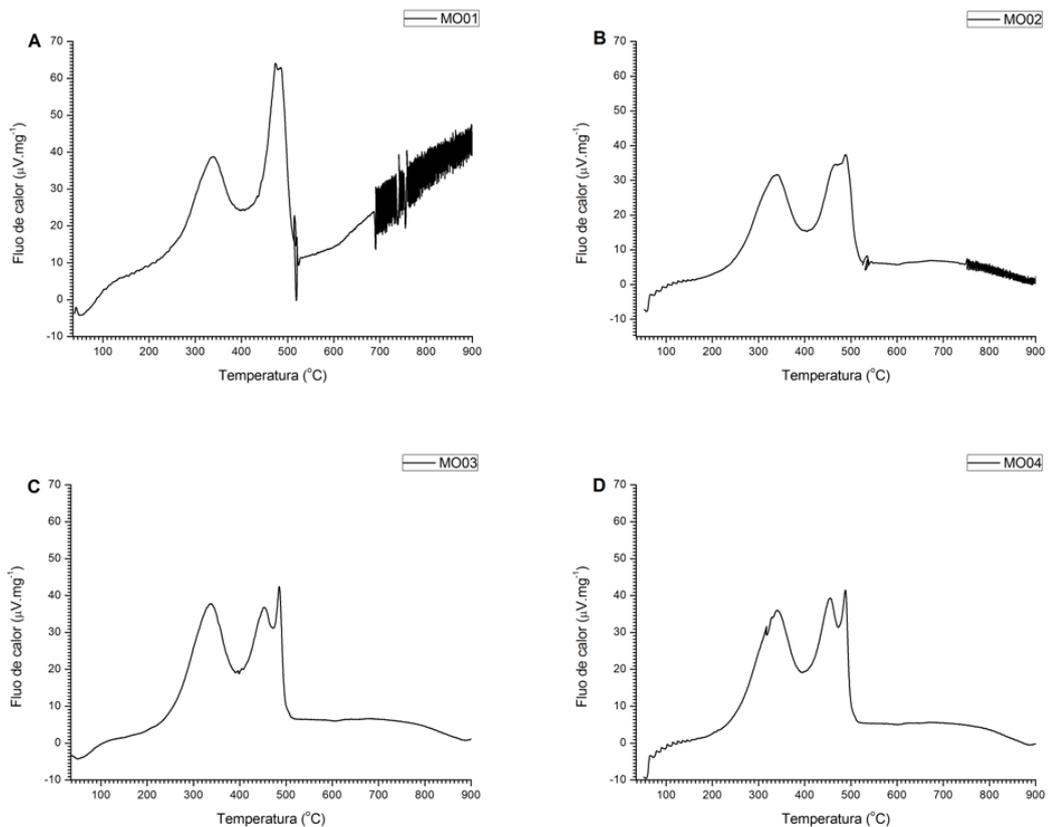
TABELA 9 - Parâmetros cinéticos de degradação térmica das drogas vegetais obtidas de *Abelmoschus esculentus* Linn.

PARÂMETROS CINÉTICOS			
Amostras	Energia de ativação (kJ.mol <sup>-1</sup> )	Ordem de reação	Fator de frequência (min <sup>-1</sup> )
AE 01	167,63	0	5,228 x10 <sup>15</sup>
AE02	159,74	0	2,260 x10 <sup>8</sup>
AE03	157,98	0	1,255 x10 <sup>15</sup>
AE04	122,71	0	1,270 x10 <sup>11</sup>

### 5.2.3 Análise Térmica Diferencial (DTA)

Nas curvas de DTA das drogas vegetais de *M. ophthalmocentra* foram observados 3 picos exotérmicos (Figura 7).

FIGURA 7 - Curvas de DTA das drogas vegetais de *M. ophthalmocentra* Mart. ex Benth em diferentes tamanhos de partículas.



Fonte: Autor próprio.

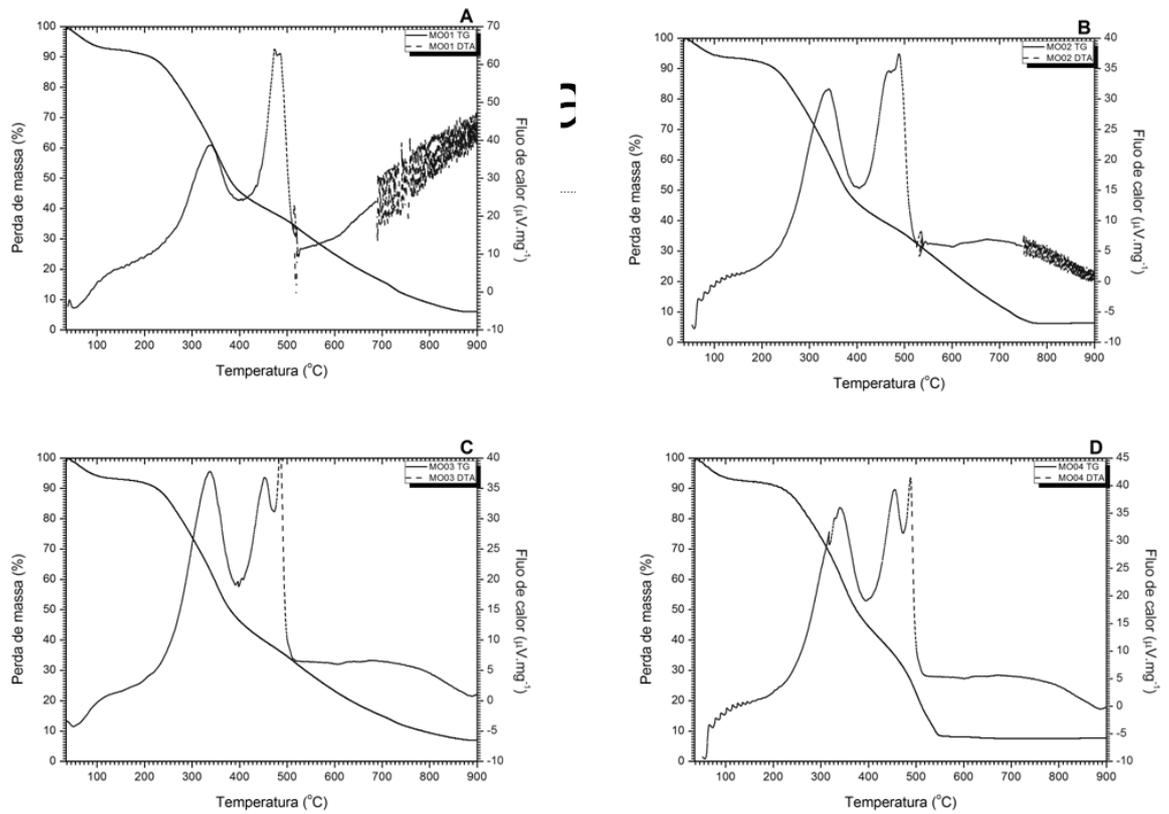
O primeiro evento apresentou uma maior liberação de energia, sugerindo-se assim que esteja relacionado com uma maior perda de massa (Tabela 10). Essa sugestão é confirmada correlacionando os dados das curvas DTA com os das curvas TG, uma vez que na análise térmica diferencial esse evento ocorre na mesma faixa de temperatura que a quarta etapa, onde ocorreu a maior perda de massa, detectada na termogravimetria. Correia et al., 2016a,b, Brandão et al., 2016 e Guimarães et al., 2017 também relacionaram o evento de maior liberação de energia com o evento de maior decomposição térmica.

TABELA 10 - Eventos exotérmicos das DTA das drogas vegetais obtidas das folhas de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, na razão 10°C/min.

Amostras	1° Evento		2°Evento		3°Evento	
	Temp. °C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>	Temp. °C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>	Temp. °C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>
<b>MO01</b>	339,18	1,47	473,63	0,26	485,32	0,08
<b>MO02</b>	340,42	1,86	475,31	0,02	488,19	0,13
<b>MO03</b>	337,79	1,91	452,46	0,32	485,23	0,29
<b>MO04</b>	339,82	0,46	454,87	0,70	488,18	0,57

Os eventos exotérmicos DTA foram observados em temperaturas relacionadas aos principais estágios de perda de massa evidenciados na análise TG da *M. ophthalmocentra* (Figura 8).

FIGURA 8 - Sobreposição das curvas TG e DTA dos pós das drogas vegetais de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, na razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C} / \text{min}$ .

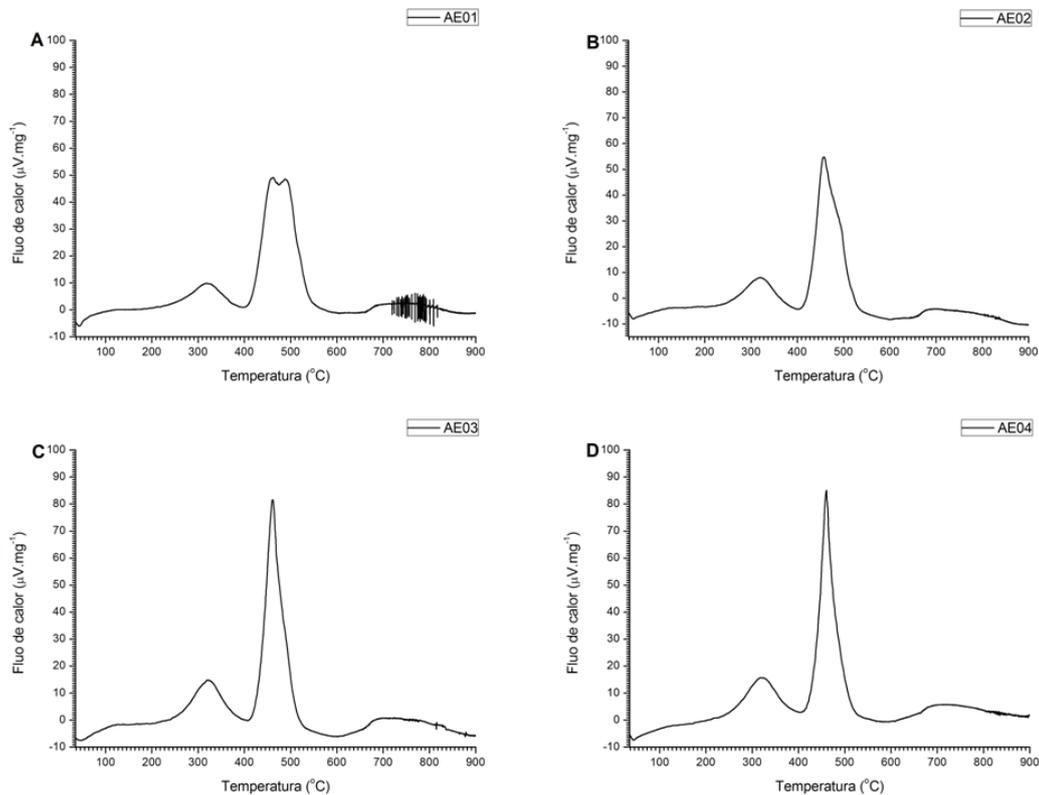


Fonte: Autor próprio.

O primeiro evento das amostras MO01, MO02 e MO03 e MO04 apresentados na Tabela 4, refere-se a degradação de estruturas aromáticas e ligações saturadas em carbonos, entre outras quebras de estruturas de hidrocarbonetos, presentes em grandes quantidades em drogas vegetais (Costa et al, 2013). Observa-se também que o segundo e o terceiro pico das amostras ficam mais intenso quando a amostra diminui de tamanho. A diferença dos valores de energia encontrados principalmente nos dois últimos eventos de cada amostra pode ser explicada pela presença remanescente de lignanas e macrocomponentes que precisam de uma maior energia para se degradarem (Ma & Mu, 2016; Lin, Tey & Chan, 2014).

Nas curvas de DTA das drogas vegetais de *A. esculentus*. foram observados 3 picos exotérmicos (Figura 9).

FIGURA 9 - Curvas de DTA das drogas vegetais de *Abelmoschus esculentus* Linn em diferentes tamanhos de partículas.



Fonte: Autor próprio.

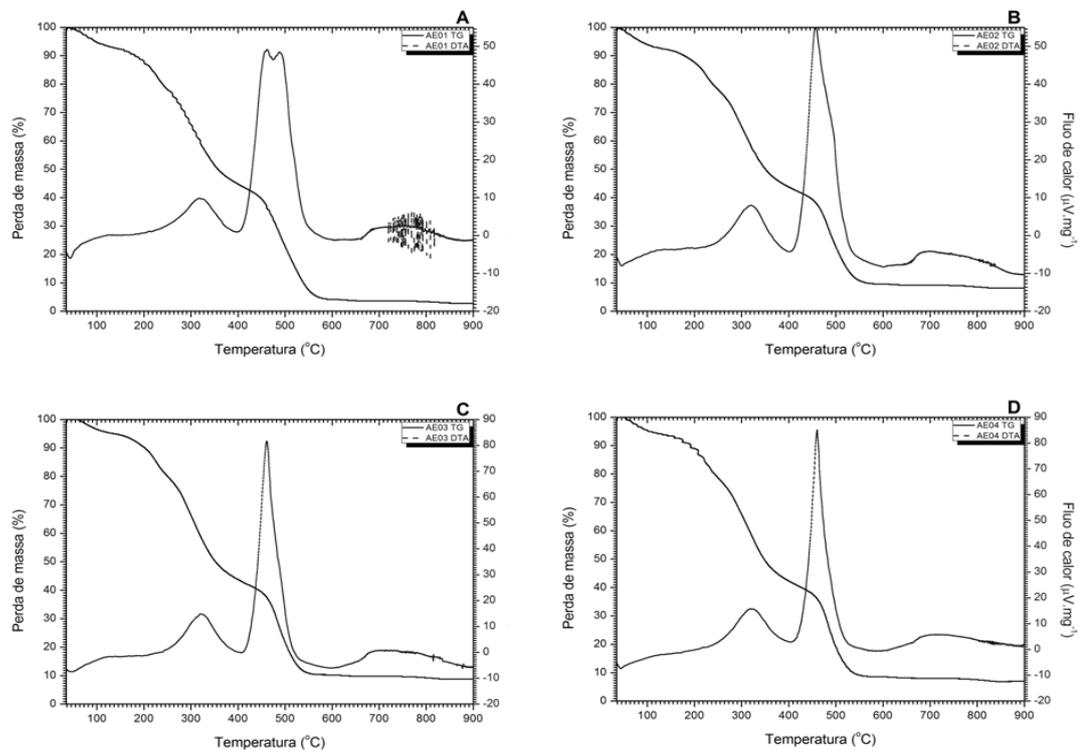
As curvas DTA indicam dois eventos exotérmicos principais, com o primeiro pico ocorrendo na faixa de temperaturas de 317-322 °C e um segundo pico a 455-500 °C para todas as amostras (Tabela 11). A amostra AE01 mostrou uma ramificação do segundo pico. A entalpia variou para o tamanho de partícula, partículas menores apresentaram maiores valores de entalpia.

TABELA 11 - Eventos exotérmicos das curvas de DTA das drogas vegetais de *Abelmoschus esculentus* Linn em diferentes tamanhos de partículas.

Droga vegetal	1º Evento		2º Evento		3º Evento	
	Temperatura/°C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>	Temperatura/°C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>	Temperatura/°C	Entalpia /kJ.g <sup>-1</sup>
AE01	317.02	0.58	462.10	0.38	287.56	0.31
AE02	320.07	0.79	456.31	1.76	-	-
AE03	319.22	1.03	461.31	1.87	-	-
AE04	318.53	0.83	460.00	1.67	-	-

Os eventos exotérmicos DTA foram observados em temperaturas relacionadas aos principais estágios de perda de massa evidenciados na análise TG (Figura 10). O primeiro evento exotérmico, ocorrendo durante o quinto estágio de decomposição térmica, provavelmente estava relacionado à quebra de carboidratos, lipídios e proteínas. O segundo evento, relacionado ao sétimo estágio de decomposição, pode representar a degradação de compostos que apresentam anéis aromáticos em sua estrutura (Francioso et al., 2007).

FIGURA 10 - Sobreposição das curvas TG e DTA dos pós das drogas vegetais de *Abelmoschus esculentus* Linn em diferentes tamanhos de partículas, na razão de aquecimento de 10 ° C / min.



Fonte: Autor próprio.

Os dados das curvas termogravimétricas de ambas as plantas em estudo, demonstram perdas de massa significativas das drogas vegetais na faixa de temperaturas de 200 ° C a 600 ° C. sendo assim, para avaliar quais os fragmentos de decomposição estavam sendo liberados nessa faixa de temperatura, as amostras foram submetidas ao processo de cromatografia gasosa e espectroscopia de massa acoplada a pirólise a temperaturas de 250 °C, 350 °C e 450 °C, uma vez que estas temperaturas representam a temperatura inicial e intermediárias do processo de decomposição térmica.

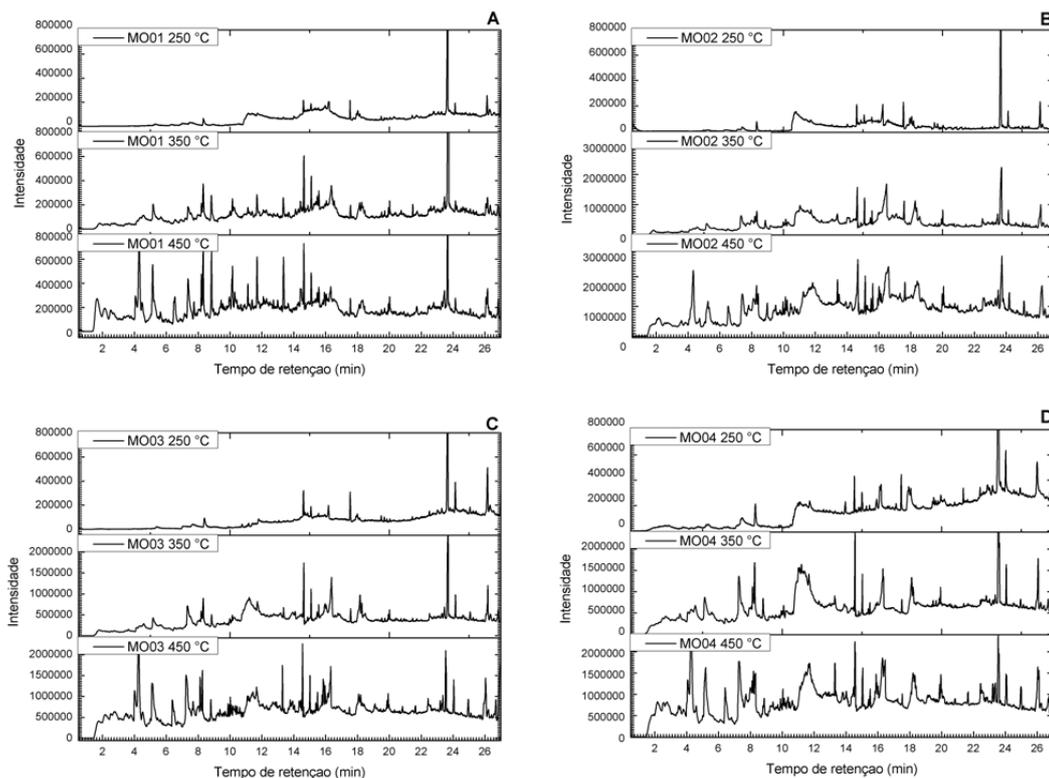
## 5.3 IMPRESSÃO DIGITAL

### 5.3.1 Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas acoplada à Pirólise (GC/EM -PIR)

A comparação entre os diferentes tamanhos de partículas das drogas vegetais tem sido realizada por GC/MS- PIR através da impressão digital dos componentes de degradação. Estes resultados também têm sido utilizados como ferramenta de controle de qualidade de plantas medicinais quanto sua autenticidade e na caracterização das amostras quanto às impressões digitais obtidas dos pirogramas dessas técnicas (Correia 2016a).

Os pirogramas apresentados na figura 11 mostram os picos dos fragmentos liberados nas amostras de *M. ophthalmocentra* em cada temperatura analisada. Dentre os fragmentos liberados, perfis cromatográficos semelhantes foram evidenciados entre as amostras e identificados pela biblioteca Wiley 229.

FIGURA 11 - Pirogramas das drogas vegetais obtidas das folhas de *M. ophthalmocentra* Mart. ex Benth. em diferentes tamanhos de partículas, nas temperaturas de 250, 350 e 450°C.



Fonte: Autor próprio.

Inicialmente quando submetida a 250°C todas as amostras (MO01, MO02, MO03 e MO04) apresentaram 4 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 14,6mim identificou a substância neophytadiene, em 17,5mim Phytol, em 23,6mim 22, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil- 2, 6, 10, 14, 18, 20 – tetrahexaneno e em 27,0mim Tocoferol. Quando submetidas a 350°C as amostras apresentaram 8 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 8,2mim 7-cyano(15n)-cycloheptatriene, em 8,3mim 3-methoxyacetophenone, em 13,3mim phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-, 14,6mim neophytadiene, 17,5mim phytol, 18,2mim 9-octadecenoic acid, 23,7mim 22, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil- 2, 6, 10, 14, 18, 20 – tetrahexaneno e em 27,1mim Tocoferol. Quando submetidas a 450°C as amostras apresentaram 6 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 4.0 mim phenol, 4,2mim limonene, 8,8mim phenol, 2,6-dimethoxy-, 14,6 neophytadiene, 23,6mim 22, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil- 2, 6, 10, 14, 18, 20 – tetrahexaneno e em 27,1mim Tocoferol.

A Tabela 12 apresenta a massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de *M. ophthalmocentra* em cada temperatura analisada.

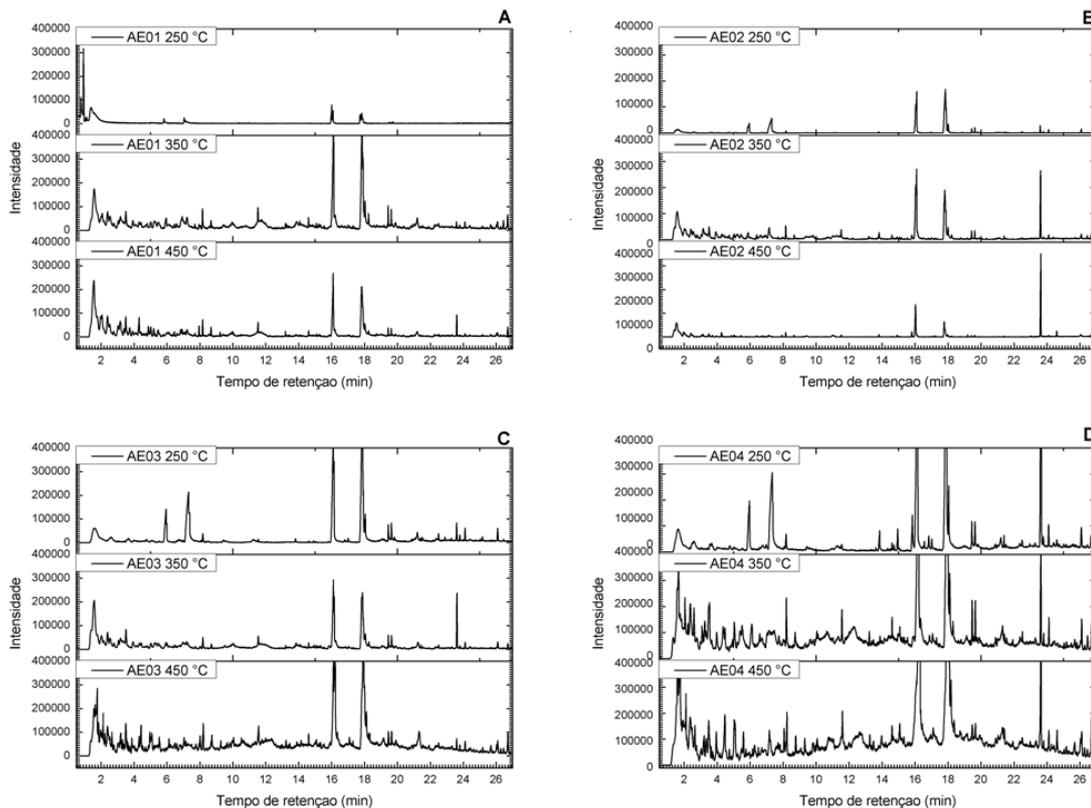
TABELA 12 - Massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth.

Temp (°C)	Massa Molecular	Fórmula Molecular	Composto Sugerido	Amostras							
				MO01		MO02		MO03		MO04	
				Área	%	Área	%	Área	%	Área	%
250	278	C20H38	Neophytadiene	306973	2.68	327433	2.74	476966	3.31	689811	4.40
	296	C20H40O	Phytol	459236	4.00	446457	3.74	527563	3.66	584948	3.73
	410	C30H50	22, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil- 2, 6, 10, 14, 18, 20 – tetrahexaneno	5745263	50.08	3400499	28.48	5508014	38.25	6279119	40.04
	730	C29H50O2	Tocoferol	2523316	21.99	2426278	20.32	3543027	24.60	1346756	8.59
350	117	C8H715N	7-cyano(15N)-cycloheptatriene	472810	1.97	547499	1.70	1059941	2.77	1459796	2.85
	150	C9H10O2	3-Methoxyacetophenone	1345425	5.60	1429642	4.44	1662642	4.34	3860941	7.08
	194	C11H14O3	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	814800	3.39	864662	2.68	718812	1.88	1352208	2.48
	278	C20H38	Neophytadiene	1655799	6.89	1727249	5.36	2700763	7.05	4168834	7.65
	296	C20H4 O	Phytol	503234	1.21	388753	1.21	502234	1.31	1355856	2.49

	289	C18H34O2	9-Octadecenoic acid	392840	1.22	2301650	7.15	3977331	10.39	2037016	3.74
	410	C30H50	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-	9690027	40.29	9994639	31.01	9162340	23.93	8641438	15.85
	730	C29H50O2	Tocoferol	7124929	29.63	7601624	23.60	8703529	22.73	1134783 9	20.82
	94	C6H6O	Phenol	1271166	4.08	1271166	3.57	6492725	9.64	5266786	9.66
	136	C10H16	Limonene	3770812	12.10	3770812	10.58	13170957	19.57	1365172 3	25.05
450	154	C8H10O3	Phenol, 2,6-dimethoxy-	1693290	5.43	1693290	4.75	1233240	1.83	1461012	2.68
	278	C20H38	Neophytadiene	1811492	5.81	1811492	5.08	3090252	4.59	3408747	6.25
	278	C30H50	2, 6, 10, 15, 19, 23 – hexametil- 2, 6, 10, 14, 18, 20 – tetrahexaneno	3268240	10.49	3268240	9.17	3138187	4.66	4788403	8.78
	278	C29H50O2	Tocoferol	6370801	20.44	6370801	17.87	9240277	13.72	8849170	16.23

Os pirogramas apresentados na figura 12 mostram os picos dos fragmentos liberados nas amostras de *A. esculentus* em cada temperatura analisada. Dentre os fragmentos liberados, perfis cromatográficos semelhantes também foram evidenciados entre as amostras e identificados pela biblioteca Wiley 229.

FIGURA 12 - Pirogramas das drogas vegetais obtidas dos frutos de *Abelmoschus esculentus* Linn em diferentes tamanhos de partículas, nas temperaturas de 250, 350 e 450°C.



Fonte: Autor próprio.

Inicialmente quando submetida a 250°C todas as amostras (AE01, AE02, AE03 e AE04) apresentaram 5 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 1,6mim identificou a substância Chloromethan, em 5,9mim 1,3-Dioxane, 4-methyl, em 6,8mim 2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)-, em 16,1min Hexadecanoic acid e em 17,0mim 9,12-Octadecadienoic acid. Quando submetidas a 350°C as amostras apresentaram 6 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 1,6mim Chloromethan, em 2,0mim Cyclopentaneundecanoic acid, em 16,1mim Hexadecanoic acid, em 17,8mim 9,17-Octadecadienal, em 18,0mim 8,11,14-Eicosatrienoic acid e em 23,6mim 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl. Quando submetidas a 450°C as amostras apresentaram 7 substâncias principais em seu pirogramas com os seguintes tempos de retenção: em 1,6mim Chloromethan, em 2,0mim Cyclopentaneundecanoic acid, em 2,3mim 2,5-Dimethylfuran, em 4,4mim 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl-, em 16,1mim Hexadecanoic acid, em 17,8mim 9,17-Octadecadienal e em 23,6mim 2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl.

A Tabela 13 apresenta a massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de *Abelmoschus esculentus* L. em cada temperatura analisada

TABELA 13 - Massa molecular (MM), a área do pico e o percentual da área, das principais substâncias identificadas nas impressões digitais obtidas nos pirogramas das amostras de *Abelmoschus esculentus* Linn.

Temp. (°C)	Massa Molecular	Fórmula Molecular	Composto Sugerido	Amostras							
				AE01		AE02		AE03		AE04	
				Area	%	Area	%	Area	%	Area	%
250	60	CH <sub>3</sub> CL	Chloromethane	471609	38	270850	8	759887	9	1329367	14
	102	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	1,3-Dioxane, 4-methyl	108815	9	343994	10	779024	9	816817	9
	109	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	2-Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl)	139946	11	754729	22	1871855	22	2587195	27
	256	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Hexadecanoicacid	371608	30	1351185	39	3298530	39	2948370	31
	264	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O	9,17-Octadecadienal	155076	12	710620	21	1777818	21	1774.210	19
350	60	CH <sub>3</sub> CL	Chloromethane	2961956	27	1130868	18	2629325	46	1583844	12
	254	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Cyclopentaneundecanoicacid	870641	8	158314	3	263825	5	116860	1
	256	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Hexadecanoicacid	3062893	28	2213404	35	1704792	30	6369913	48
	264	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O	9,17-Octadecadienal	3102992	28	1582127	25	684428	12	2582689	19

	306	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	8,11,14-Eicosatrienoic acid	930057	8	139484	2	104403	2	375882	3
	410	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl	79371	1	1018276	16	281554	5	2246111	17
	60	CH <sub>3</sub> CL	Chloromethane	1648725	37	484669	23	1485643	11	2625703	9
	254	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	Cyclopentaneundecanoicacid	337581	8	234758	11	964941	7	1906103	7
	96	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O	2,5-Dimethylfuran	195805	4	92997	4	1066617	8	1603609	6
450	112	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-methyl-	158072	4	95621	5	745036	5	1275382	5
	256	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	Hexadecanoicacid	773750	17	638131	31	4941086	35	7921806	28
	264	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O	9,17-Octadecadienal	985736	22	472302	23	4869209	34	9372129	33
	410	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl	338788	8	51051	2	74712	1	3391882	12

Algumas plantas também que foram caracterizadas usando as impressões digitais obtidas nos pirogramas de drogas vegetais. Entre elas podem ser citadas: *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl (Wang et al., 2011), *Cymbopogon citratus* Stapf (Oliveira et al., 2010), *Momordica charantiaem* (Brandão et al., 2016), *Erythrina Mulungu* Linne and *Matricaria Chamomilla* Linne (Macedo et al., 2009a,b), *Maytenus rigida* (Correia et al., 2016a), *Sideroxylon obtusifolium* (Correia et al., 2016b), *Poincianella pyramidalis* (Guimarães et al., 2017).

Após análise da estabilidade térmica e dos fragmentos liberados durante os estádios de degradação, infusões e extratos hidroalcoólicos foram preparados das drogas vegetais para uso na quantificação fitoquímica e nos testes farmacológicos.

#### 5.4 QUANTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Nas análises fitoquímicas foram quantificadas as concentrações de polifenóis, flavonóides e taninos de infusões e extratos hidroalcoólicos obtidos das drogas vegetais de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* em diferentes tamanhos de partículas. A Tabela 14 apresenta o teor de taninos, polifenóis e flavonóides obtidos por espectroscopia na região do visível em cada grama de droga vegetal das folhas de *M. ophthalmocentra* na integra. Os Polifenóis são os metabólitos secundários que se apresentaram em maior quantidade nas drogas vegetais das folhas de *M. ophthalmocentra* dentre as três classes quantificadas, tanto na forma de infuso quanto no extrato.

TABELA 14 - Teor de Polifenóis, Taninos e Flavonóides obtidos por espectroscopia na região do visível em cada droga vegetal na integra de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth.

Amostras	Compostos fitoquímicos (mg/g)					
	Infusão			Extrato Fluido		
	Polifenóis	Taninos	Flavonoides	Polifenóis	Taninos	Flavonoides
MO01	114.10±0.01	3.02±0.02	4.01±0.02	734,3 ± 0,03	22,9 ± 0,02	374,0 ± 0,03
MO02	119.20±0.02	3.07±0.02	3.78±0.02	735,3 ± 0,04	21,5 ± 0,03	371,5 ± 0,04
MO03	114.95±0.04	3.35±0.02	3.70±0.05	730,3 ± 0,03	21,0 ± 0,03	370,2 ± 0,01
MO04	102.13±0.01	2.95±0.04	3.86±0.04	729,3 ± 0,02	19,9 ± 0,04	370,5 ± 0,03

Na literatura pesquisada, apenas relato da presença de alcalóides em *M. ophthalmocentra* foi encontrado (Morais, Alvarenga & Ferreira, 1990; BATISTA et al., 1999). Entretanto, foram evidenciados alguns compostos fitoquímicos em plantas do mesmo gênero. Em extratos de *M. tenuiflora* foram encontrados flavonóides, alcalóides, saponina e taninos (Meckes-Lozoya et al., 1990; Anton et al., 1993; Silva et al., 2011) e Bum et al., (2004) mostrou que a caracterização fitoquímica de *M. pudica* revelou a presença de taninos, esteróides, alcalóides, glicosídeos triterpenos e flavonóides.

Nas análises fitoquímicas de *A. esculentus*, a tabela 15 mostra que os Flavonóides são os metabólitos secundários que se apresentam em maior quantidade nas drogas vegetais dessa planta dentre os três metabólitos quantificados nesse estudo.

TABELA 15 - Teor de Polifenóis, Taninos e Flavonóides obtidos por espectroscopia na região do visível em cada droga vegetal na integra de *Abelmoschus esculentus* Linn.

Amostras	Compostos fitoquímicos (mg/g)					
	Infusão			Extrato Fluido		
	Polifenóis	Taninos	Flavonoides	Polifenóis	Taninos	Flavonoides
AE01	40,35±0,02	30,24±0,02	11,91±0,08	292,05±0,04	3,7±0,20	95,31±0,05
AE02	37,29±0,02	30,22±0,03	11,48±0,02	290,76± 0,04	3,5± 0,07	95,10 ± 0,08
AE03	37,14±0,05	30,16±0,02	11,36±0,04	290,01±0,02	3,5±0,07	95,08±0,05
AE04	37,12±0,04	30,19±0,06	11,20±0,09	289,08±0,05	3,3±0,05	95,02±0,02

Poucos estudos são encontrados com a determinação fitoquímica de *A. esculentus*, e a maioria destes referem-se apenas a triagens qualitativas a fim de revelar quais os constituintes presentes. Dentre os estudos encontrados vale ressaltar o de Alqasoumi (2012), onde uma triagem qualitativa preliminar de frutos de *A. esculentus* revelou a presença de flavonóides, taninos, antraceno, esteróis e/ou triterpenos; bem como Adetuyi & Ibrahim (2014) que determinaram a presença quantitativa de compostos fenólicos e de flavonóides totais em sementes de *A. esculentu*, assim como Dovich (2009), que estudou a ação ansiolítica do flavonóide rutina encontrado no fruto.

Com base nos resultados obtidos na quantificação fitoquímica (Tabela 06), foi aplicada análise estatística, por análise de variância (ANOVA), utilizando os testes de Fisher, Bonferroni e Tukey e observado que a quantidade de Polifenóis, Taninos e Flavonoides presentes nas amostras de tamanho de partículas diferentes de ambas as plantas em estudo não apresentam diferença significantes entre as amostras.

Baseado nesses resultados, infusões e extratos hidroalcoólicos de *M. ophthalmocentra* (IMO e EHMO respectivamente) e *A. esculentus* (IAE e EHAE respectivamente) foram preparados apenas a partir da amostra MO02, visto que as amostras não apresentaram diferenças significantes nos teores dos compostos fitoquímicos estudados, para serem utilizadas nos testes farmacológicos com camundongos e ratos.

## 5.5 TESTES BIOLÓGICOS

### 5.5.1 Triagem comportamental farmacológica e determinação da dose letal 50% (DL50)

Com a finalidade de traçar um perfil da ação biológica de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus* no sistema nervoso, foi realizada a triagem farmacológica comportamental por ser um teste preliminar de fácil execução que possibilita investigar o perfil farmacológico de uma substância, de forma qualitativa e algumas de suas ações do Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA) (Almeida et al., 1999; Almeida e Oliveira, 2006).

Em linhas gerais, nesse estudo, os camundongos tratados por via oral com IMO, EHMO, IAE e EHAE não apresentaram diferenças comportamentais sugestivas de ação no sistema nervoso. Pesquisas de ação farmacológica da *M. ophthalmocentra* no sistema nervoso não foram encontrados, entretanto de outras plantas pertencentes ao mesmo gênero foram

encontrados, tais como Molina et al., (1999) onde detectaram em seu estudo que *M. pudica* produziu um efeito antidepressivo semelhante ao de dois antidepressivos tricíclicos e Bum et al., (2004) avaliaram a atividade anticonvulsivante também da *M. pudica* em ratos. Com relação ao *A. esculentus*, foi encontrado na literatura relatos de que o extrato metanólico das sementes e raízes de *A. esculentus* apresentaram pequenas alterações como ataxia e diarreia no trabalho desenvolvido por Shammi et al., 2004.

No intuito de racionalizar o uso de animais de laboratório, foi realizada a determinação da DL<sub>50</sub> juntamente com a triagem farmacológica comportamental. Os animais foram mantidos em observação por um período de 14 dias, com a finalidade de se contabilizar as possíveis mortes. Durante este período não foram observadas mortes dos animais tratados até com a dose máxima de 4000 mg/kg de *M. ophthalmocentra* e *A. esculentus*. Dessa forma, a DL<sub>50</sub> não pôde ser determinada, sugerindo-se que as plantas analisadas apresentaram baixa toxicidade. Quanto a *M. ophthalmocentra* não há relatos na literatura de nenhum ensaio de toxicidade realizado com extratos de partes desse vegetal. Com relação a *A. esculentus* encontrou-se na literatura que SABITHA et al., (2011) avaliaram a toxicidade aguda do pó tanto da semente quanto da casca de a *A. esculentus* na dose de 2000mg/kg (p.o.) e observaram que os animais não apresentaram nenhum sinal de toxicidade e mortalidade no período de 14 dias após tratamento. Além disso, HOSEN et al., (2013) relataram que a administração oral do extrato metanólico da raiz de a *A. esculentus* na dose de 4000 mg/kg não provocou mortes nos animais no período de 24h. Entretanto não foi encontrado estudos quanto a toxicidade dos frutos desse vegetal.

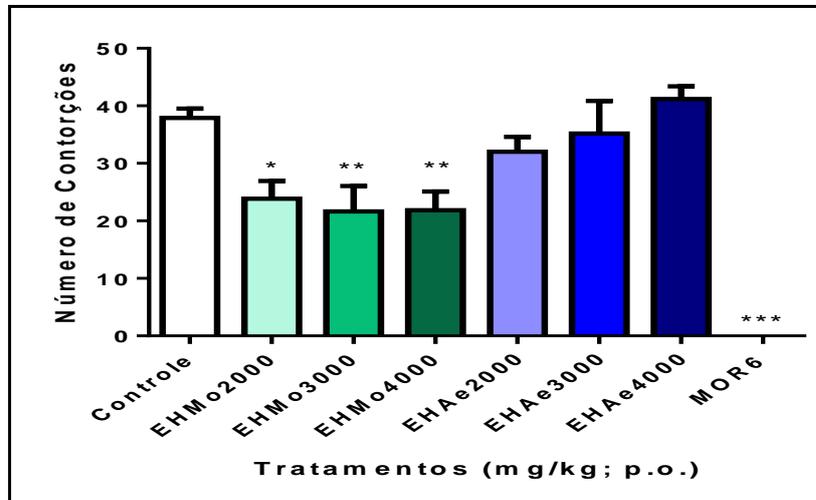
É importante ressaltar que, apesar da impossibilidade de calcular a DL<sub>50</sub>, já que essa se encontra superior a 4000 mg/kg, não se pode afirmar que as plantas não apresentam toxicidade, uma vez que qualquer substância química pode ser tóxica, se a dose ou a exposição se tornarem suficientemente altas (Sipes; Dart, 1997; Diniz, 2000).

### **5.5.2 Teste das Contorções Abdominais Induzidas pelo Ácido Acético**

Além da triagem comportamental e da DL<sub>50</sub>, os EHMO e EHAE nas doses de 2000, 3000 e 4000 mg/kg (p.o) foram avaliados quanto atividade antinociceptiva. De acordo com o apresentado na Figura 13, o EHMO foi capaz de diminuir o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético nos camundongos nas doses de 2000 (23.8 ± 3.1), 3000 (21.7 ±

4.4) e 4000 ( $21.8 \pm 3,2$ ) mg/kg, quando comparado com o número de contorções observados no grupo controle ( $37,9 \pm 1.6$ ).

FIGURA 13 - Efeito da administração das substâncias em teste sob as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.



Fonte: Autor próprio.

Como esperado, o grupo tratado com morfina (6 mg/kg, i.p.) reduziu significativamente ( $0.0 \pm 0.0$ ) as contorções abdominais quando comparado em relação ao grupo controle. Em nenhuma das doses avaliadas, o grupo tratado com a *A. esculentus* reduziram significativamente as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético quando comparado o grupo do EHAe com o controle.

Apesar deste teste isoladamente ser incapaz de afirmar se a antinocicepção foi central ou periférica, o resultado indica que o EHMO pode apresentar um efeito antinociceptivo do tipo antiinflamatório. Resultados similares foram encontrados em planta da mesma família, como com o extrato etanólico da *Mimosa hostilis* (Cruz, 2013).

Na literatura extratos de *A. esculentus* demonstraram atividade antinociceptiva no teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético quando tratados com extrato metanólico e aquoso da casca do caule (Naim et al., 2015) e metanólico da raiz (Hossen et al., 2013), fruto e semente (Shammi et al., 2004). A diferença dos resultados encontrados nesse estudo com relação aos encontrados na literatura pode ser justificada pelo simples fato do uso de solventes e/ou partes da planta diferente da utilizada nas preparações das amostras em testes nesse estudo.

Faz-se necessária a continuidade dos estudos farmacológicos pré-clínicos com estas plantas, no intuito de caracterizar de forma mais específica o seu efeito antinociceptivo do tipo antiinflamatória.

### 5.5.3 Avaliação dos parâmetros hematológicos pós tratamento

Ratos Wistar foram tratados com extratos de *M. ophthalmocentra* (EHMO), *A. esculentus* (EHMO) e com Meloxicam. Foram investigadas possíveis alterações hematológicas nas concentrações de hemácias. A Tabela 16 apresenta os resultados provenientes da coleta sanguínea no tempo 0 mostrando os valores das concentrações hematológicas nos animais antes de iniciar o tratamento, confirmando que todos os animais encontravam-se dentro dos parâmetros de normalidade (Melo et al., 2012). Sete dias após a primeira administração (Dia 07) das substâncias em estudo observa-se no resultado dos exames que as concentrações de hemácias não tiveram reduções significativas ( $p > 0.05$ ). Dessa forma pode-se sugerir que o efeito hemolítico tanto do meloxicam quanto dos vegetais em estudo pode ocorrer apenas de forma antiinflamatória, sem causar uma possível anemia.

TABELA 16 - Resultados hematológicos dos Ratos Wistar tratados com *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth., *Abelmoschus esculentus* Linn. e Meloxicam.

Grupos	Glóbulos vermelhos (milhões/mm <sup>3</sup> )	
	Dia 0	Dia07
Controle Negativo	8,82	8,34
Meloxicam (500 µg/ml)	8,82	8,34
Meloxicam (1000 µg/ml)	8,82	8,34
EHMO (500 µg/ml)	8,82	8,34
EHMO (1000 µg/ml)	8,75	8,50
EHAE (500 µg/ml)	9,27	8,55
EHAE (1000 µg/ml)	9,23	8,80

No teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético observou-se que *M. ophthalmocentra* pode apresentar um possível efeito antinociceptivo do tipo antiinflamatório. Desta forma, os ensaios hematológicos sugerem que o possível uso dessa substância dentro

dos parâmetros avaliados não causaria um efeito colateral nas células sanguíneas. Com relação ao *A. esculentus* embora, na forma avaliada, não tenha apresentado uma possível ação antinociceptiva, esse vegetal deve ser estudado através da obtenção de extratos utilizando outros solventes, por exemplo, para uma nova avaliação quanto ao seu potencial, uma vez que indícios de toxicidade também não foram encontrados nas células hematológicas.

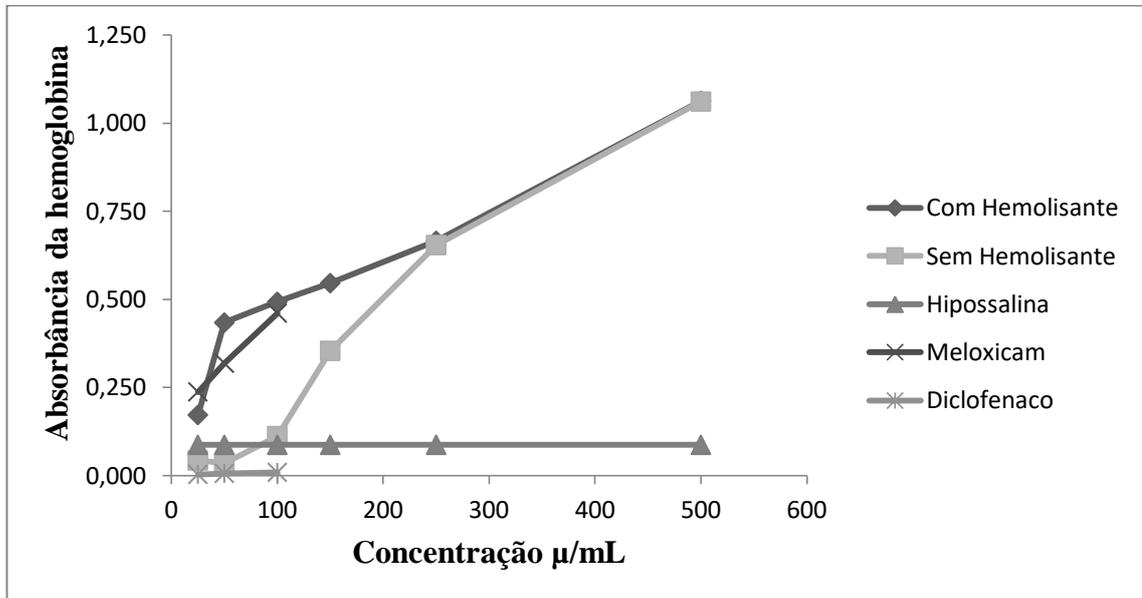
O meloxicam é um dos antiinflamatórios que tem se mostrado mais seguro em relação aos efeitos adversos. A literatura afirma que este fármaco não induziu importantes mudanças nos parâmetros hematológicos e também bioquímicos quando essa substância é avaliada em cães e ratos clinicamente saudáveis, porém que ele pode promover um efeito deletérios de forma dose-dependentes, quando administrado em doses cinco a dez vezes maiores que a dose terapêutica, durante 16 dias de tratamento (Villegas et al., 2002; Alencar et al., 2003, Barbosa et al., 2010).

#### **5.5.4 Avaliação da ação hemolítica in vitro**

Além de avaliar o hemograma dos ratos, hemácias foram expostas *in vitro* aos extratos de *M. ophthalmocentra* (EHMO) e *A. esculentus* (EHMO) em meio com e sem agente hemolisante. Vale ressaltar que o diclofenaco e o meloxicam foram testados em concentrações variando de 20 a 100 µg/ml, enquanto que a planta com e sem hemolisante foram testadas nas concentrações variando de 20 a 500 µg/ml. As figuras 14 e 15 apresentam a absorvância da hemoglobina exposta ao extrato da *M. ophthalmocentra* e de *A. esculentus* no meio com hemolisante e sem hemolisante, meloxicam e diclofenaco.

Na figura 14, observa-se que o diclofenaco apresenta uma baixa absorvância significando que o poder hemolítico dessa substância é baixo nas concentrações testadas em comparação com os resultados obtidos do meloxicam e do extrato da *M. ophthalmocentra*, nas mesmas concentrações. Com relação a *M. ophthalmocentra* com e sem hemolisante observa-se que nas concentrações de 20 a 100 µg/ml ambas apresentam efeito hemolítico maior que o diclofenaco, entretanto na presença do agente hemolítico o efeito da hemólise do extrato da *M. ophthalmocentra* é maior que o do meloxicam nas concentrações de 50 e 100 µg/ml. Extrapolando as concentrações do extrato da *M. ophthalmocentra* para 250 e 500 µg/ml, observa-se que o efeito hemolítico no meio com e sem hemolisante não tem diferença significativa ( $p > 0.05$ ). Entretanto esse efeito é maior que o do meloxicam e diclofenaco a 100 µg/ml.

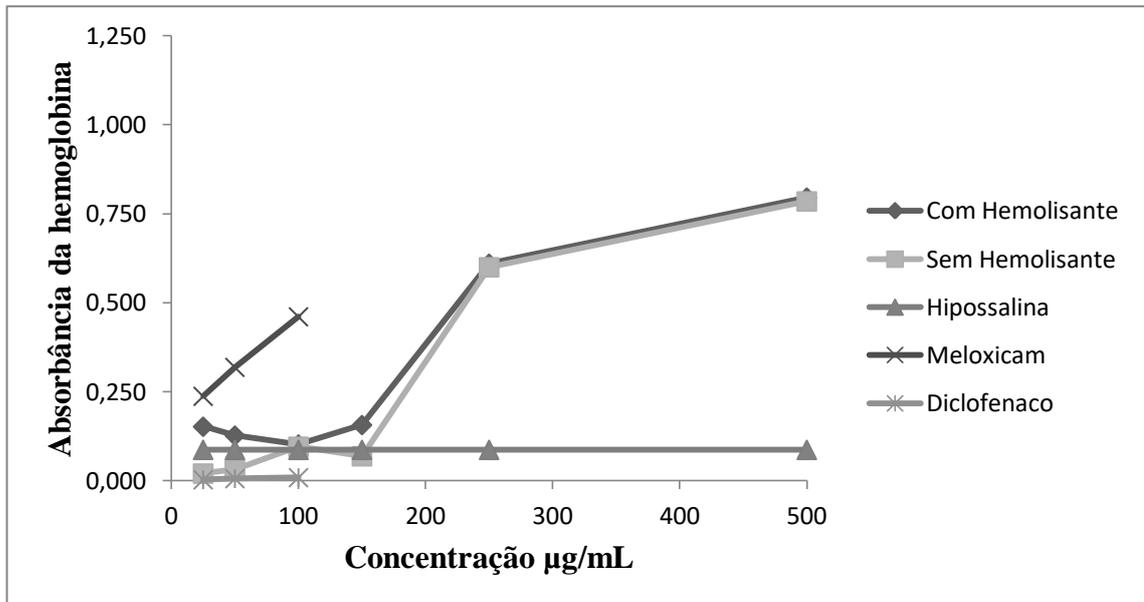
FIGURA 14 - Ação hemolítica *in vitro* da *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth. em comparação com agente hemolisante e fármacos padrão.



Fonte: Autor próprio.

Na figura 15, observa-se o mesmo comportamento do diclofenaco e do meloxicam apresentado na figura anterior. Com relação a *A. esculentus* nas concentrações de 20 a 100 µg/ml, na presença do agente hemolisante, o efeito hemolítico é maior que o efeito apresentado com o diclofenaco e com o agente hemolisante sozinho, mostrando que pode ocorrer um sinergismo entre a *A. esculentus* e o agente hemolítico potencializando o efeito tanto do extrato de *A. esculentus* quanto do agente atuando sozinho. Entretanto esse efeito é menor que o efeito apresentado pelo meloxicam nessas mesmas concentrações. Observa-se também que a partir de 150 µg/ml do extrato de *A. esculentus* com e sem agente hemolisante o efeito hemolítico não apresenta diferença significativa ( $p > 0.05$ ), porém nas concentrações de 250 e 500 µg/ml do extrato de *A. esculentus* o efeito hemolítico é maior que o do meloxicam e diclofenaco a 100 µg/ml.

FIGURA 15 – Ação hemolítica *in vitro* da *Abelmoschus esculentus* Linn em comparação com agente hemolisante e fármacos padrão.



Fonte: Autor próprio.

## 6 CONCLUSÕES

Foi possível caracterizar de forma quantitativa as drogas vegetais de diferentes tamanhos de partículas com relação à composição centesimal, onde os carboidratos se apresentaram em maior quantidade com relação aos lipídeos e as proteínas. A composição mineral também foi determinada de forma quantitativa, mostrando que os índices de cálcio são superiores com relação aos demais minerais avaliados.

Os dados térmicos mostraram que é possível identificar os diferentes tamanhos de partículas, evidenciou a diminuição nos valores da energia de ativação com a redução do tamanho de partícula, demonstrando a diminuição na estabilidade com o aumento da área superficial das partículas.

Os pirogramas das amostras mostram diferença na quantidade de picos presentes em cada temperatura avaliada, uma vez que quanto maior a temperatura da pirólise maior a quantidade de picos detectados, sendo assim possível uma melhor caracterização das drogas vegetais através da sua impressão digital pirolítica.

Na quantificação dos metabólitos secundários das drogas vegetais foi possível quantificar a concentração de polifenóis, flavonóides e taninos. As concentrações dos constituintes obedeceram a seguinte ordem para ambas os vegetais: polifenóis > flavonóides > taninos.

Os estudos biológicos mostraram atoxicidade de ambas as drogas vegetais e extratos nas concentrações até 4000 mg/Kg de animal. Nas doses de 2000, 3000 e 4000 mg/Kg de animal foram verificadas as atividades antinocepticas. A atividade antiinflamatória sugestiva foi observada nos ensaios hemolíticos *in vitro*.

## REFERÊNCIAS

- ACIKGOZ, C.; KOCKAR, O. M. **Characterization of slow pyrolysis oil obtained from Linseed (*Linum usitatissimum* L.)**. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, v.85, p. 151-4, 2009.
- ADELAKUN, O. E. et al., **Chemical composition and the antioxidative properties of Nigerian Okra Seed (*Abelmoschus esculentus* Moench) Flour**. Food and Chemical Toxicology, v.47, p. 1123–1126, 2009.
- ADETUYI, F. O. & IBRAHIM T. A. **Effect of Fermentation Time on the Phenolic, Flavonoid and Vitamin C Contents and Antioxidant Activities of Okra (*Abelmoschus esculentus*) Seeds**. Official Journal of Nigerian Institute of Food Science and Technology, v. 32, n. 2, p. 128 – 137, 2014.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Consulta pública nº 35, 12 de junho de 2009. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 23 de julho de 2009.
- AGRA, M. de F. et al. **Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.17, n.1, p.114-140, 2007.
- ALENCAR, M. M. A. et al. Margem de segurança do meloxicam em cães: efeitos deletérios nas células sanguíneas e trato gastrointestinal. **Ciência Rural**, v. 33, n. 3, p. 525-532, 2003.
- ALMEIDA, R. N. & OLIVEIRA, T. M. L. **Triagem farmacológica comportamental**. Psicofarmacologia: fundamentos práticos, 1ª Ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, v.11, p,131-137, 2006.
- ALMEIDA, R. N. et al. **Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais**. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.80, p.72-76, 1999.
- ALQASOUMI, S. I. **'Okra' *Hibiscus esculentus* L.: A study of its hepatoprotective activity**. Saudi Pharmaceutical Journal, v.20, p. 135–141, 2012.

ALVES, M. S. M. et al., **Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., Bignoniaceae.** Revista brasileira de farmacognosia, v.20, n.2, p. 215-221, 2010.

AMALRAJ, T. & IGNACIMUTHU S. **Hyperglycemic effect of leaves of *Mimosa pudica* Linn.** Fitoterapia, v.73, p. 351 – 352, 2002.

AMAN, M. **Secrets of Your Food.** 2º edição, Índia: Indo-American Hospital, 1969.

ANSARI, N. M., et al., **Antioxidant activity of five vegetables traditionally consumed by south-Asian migrants in Bradford, Yorkshire, UK.** Phytotherapy Research, v.19, p.907-911, 2005.

ANTON, R. et al., **Pharmacognosy of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret.** Journal of Ethnopharmacology, v. 38, n. 2-3, p. 153-157, 1993.

ARAGÃO, C. F. S. **Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, p. 60-61, 2002.

ARAÚJO, A. A. S. et al., **Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 42, n. 2, p. 269-277, 2006.

ARIEDE, J. R. et al. **Feito da dipirona, do naproxeno e do diclofenaco de potássio sobre células sanguíneas.** Revista Uniara, v. 12, n.2, 2009.

AROKIYARAJ, S. et al., **Phytochemical screening, antibacterial and free radical scavenging effects of *Artemisia nilagirica*, *Mimosa pudica* and *Clerodendrum siphonanthus* - An in - vitro study.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, v.2, p. 601-604, 2012.

BARBOSA, C. M. et AL.. **Avaliações hematológicas e bioquímicas do uso de diclofenaco de sódio, meloxicam e firocoxibe em ratos.** Brazilian Journal of Veterinary. v. 47, n. 2, p. 118-126, 2010.

BARNI, S.T., CECHINEL FILHO V. & COUTO A. G. **Caracterização química e tecnológica das folhas, caules e planta inteira da *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br.,**

**Convolvulaceae, como matéria prima farmacêutica.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.19, n.4, p.865-870, 2009.

BATISTA, L. M. et al., **Isolation and identification of putative hallucinogenic constituents from the roots of *Mimosa ophthalmocentra*.** Pharmaceutical Biology, v. 37, n. 1, p. 50-53, 1999.

BENÍCIO, D. A.; NETO, V. Q.; SOUSA, J. G. de. **Avaliação das propriedades físico-químicas e da composição química parcial do óleo de sementes de Nim Indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.), cultivado no município de Patos – Paraíba.** Biofarma, v.4, n.2, p. 22-33, 2010.

BERG, J. M. T. & LUBERT J. **Bioquímica.** 6º edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

BEVANS, N. et al. **Preliminary phytochemical study of two Caribbean *Malvaceae* used in the treatment of conjunctivitis.** Journal of Undergraduate Research, v.1, p.20–24, 2001.

BORGES, D. B. et al. Comparação das metodologias da Farmacopéia Brasileira para determinação de água em matérias-primas vegetais, e validação da determinação de água em analisador de umidade para *Calendula officinalis* L., *Foeniculum vulgare* Miller, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek e *Passiflora alata* Curtis. Revista brasileira de Farmacognosia, v.15, n.3, p.229-236, 2005.

BRANCO, A. C. S. C. et al. **Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Ratos Wistar e Camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George.** Revista Brasileira de Ciências da Saúde, v. 15, n. 2, p. 209-214, 2011.

BRANDÃO, D. O. et al. **Model Analytical Development for Physical, Chemical, and Biological Characterization of *Momordica charantia* Vegetable Drug.** Journal of Analytical Methods in Chemistry. p.1-16, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003.** Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, de 02 de junho de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 48, de 16 de março de 2004.** Dispõe sobre o Registro de Fitoterápicos. Diário Oficial da União, v.53, n.1, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 10 de 10 de março de 2010.** Dispõe sobre o registro de fitoterápicos, de 30 de março de 2010

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 2.960, de 09 de dezembro de 2008.** Aprova o Programa Nacional de Plantas medicinais e fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Diário Oficial da União, nº 240, 10 de dezembro de 2008. p. 56.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Atenção à Saúde.** Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na atenção básica. Brasília, DF: Ed. Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Ministério da saúde. **Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica.** Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas medicinais da Central de Medicamentos/ Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148p.

BUM, E. N. et al., **Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction.** Fitoterapia 75 p. 309–314, 2004.

CAMELO, S. R. P.. **Estudos de pré-formulação e formulação de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy.** Dissertação. Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Pará. 2009.

CARVALHO, A. C. B et al., **Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos.** Fitos, v.7, p.6-16, 2012.

CARVALHO, C. C. C. R. et al., **Antibacterial Properties of the Extract of *Abelmoschus esculentus*.** Biotechnology and Bioprocess Engineering, v. 16, p. 971-977, 2011.

CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios, Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Ribeirão Preto: TECMEDD, 2004.

CECHINEL, FILHO, V. & YUNES R. A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais.** Química Nova, v.21, n.1, 1998.

CHANDRA, S. & MEJIA E. G. **Polyphenolic compounds, antioxidant capacity and quinone reductase activity of an aqueous extract of Ardisia compressa in comparison to Mate (*Ilex paraguayensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas.** Journal Agricola Food Chemistry, v. 52, 2004.

CHAUDHARI Y, et al., **An evaluation of antibacterial activity of *Abelmoschus esculentus* on clinically isolated infectious disease causing bacterial pathogen from hospital.** International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, v.1, n.3, p.107-111, 2011.

CHAVES, T. P. et al. **Evaluation of the Interaction between the *Poincianella pyramidalis* (Tul.) LP Queiroz Extract and Antimicrobials Using Biological and Analytical Models.** Plos One, v.11, n.05, 2016.

CHAVES, T. P. et al. **Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine.** African Journal of Biotechnology, v.12, p. 847-853, 2013.

CHOI D, W. et al., **Regulation and quality control of herbal frugs in Korea.** Toxicology, v. 181-182, p. 581-586, 2002.

CHOPRA, R. N., NAYAR S. L. & CHOPRA I. C. **Glossary of Indian Medicinal Plants,** Council of Scientific & Industrial Research, New Delhi, p. 133.

CORREIA, L. P. et al., **Characterization of herbal medicine with different particle sizes using Pyrolysis, GC/MS, SEM, and thermal techniques.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 111, n. 3, p. 1691-1698, 2013.

CORREIA, L.P. et al. **Physical and chemical characteristics of *Maytenus rigida* in different particle sizes using SEM/EDS, TG/DTA and pyrolysis GC-MS.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 131, n.1, 2016b.

CORREIA, L.P. et al. ***Sideroxylon obtusifolium* herbal medicine characterization using pyrolysis GC/MS, SEM and different thermoanalytical techniques.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.123, n.2, p.993-1001, 2016a.

COSTA, A. C. B. P. **Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. e *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*.** Revista de Odontologia da UNESP, v.38, n.2, p. 111-116, 2009.

COSTA, C. A. R. de A. et al., **The gabaergic system contributes to the anxiolytic-like effect of essential oil from *Cymbopogon citratus* (lemongrass).** Journal of Ethnopharmacology, v. 137, n. 1, p. 828-836, 2011.

COSTA, R.S. et al. **Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v.111, p1959-1964, 2013.

CRUZ, M. P. **Isolamento e identificação de compostos bioativos de mimosa hostilis Benth.** Doutorado em Química. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal da Bahia. Salvador. Brasil. 2013.

DINIZ, M.F.F.M. **Ensaio toxicológicos pré-clínicos com as folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl.** Doutorado em Farmacologia. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. Brasil. 2000.

DOVICH, S. S. **Estudos dos efeitos dos flavonoides provenientes do quiabo (*Abelmoschus esculentum*) em comportamento relacionados a ansiedade em camundongos.** 2009. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo.

EATON, D. L. & GILBERT S. G. **Principles of toxicology. In: Klaassen, C.D. Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons.** New York: Mac Graw-Hill, v.7, n. 2, p.11-43, 2008.

FERNANDES, F. H. A. et al. **Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. p 2807-2913. 2013.

FERREIRA, M. R. A. ET AL., **Antifungal activity of medicinal plants from Northeastern Brazil.** J. Med. Plants Res. Vol. 7(40), pp. 3008-3013, 2013

FERREIRA, P. S. **Atividade anti-inflamatória e antioxidante de flavonoides cítricos em camundongos submetidos a dieta indutora do estado pró-inflamatório.** 2014. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista.

FIGUEIREDO, A. L. **Pirólise termoquímica de pós da fibra de coco seco em um reator de cilindro rotativo para produção de bio-óleo.** 2011. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

FRADE, J. C. et al., **Chemotaxonomic application of Py-GC/MS: Identification of lacquer trees.** Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, v.89, p. 117-21, 2010.

FRANCIOSO, O. et al. **TG-DTA, DRIFT and NMR characterisation of humic-like fractions from olive wastes and amended soil.** Journal of Hazardous Materials, v.149,n. 2, p.408-417, 2007.

FREIRES, I. de A. et al., **Atividades antibacteriana e antiaderente *in vitro* de tinturas de *Schinus terebinthifolius* (Aroeira) e *Solidago microglossa* (Arnica) frente a bactérias formadoras do biofilme dentário.** Revista Odontologia Clínico Científica, v.9, n.2, p. 139-143, 2010.

FREITAS, A. V. L. et al., **Os raizeiros e a comercialização de plantas medicinais em São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil.** Revista Brasileira de Biociências, v.10, n.2, p.147-156, 2012.

GARCIA, A. Q. R. et al. **Estudo das propriedades de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sache.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.93, n.4, p.469-475, 2012.

GINDRI, A. L. et al. Controle microbiológico de drogas vegetais comercializadas na região central do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.3, p.563-570, 2012.

GIUFFRIDA, F. et al., **Activity and thermal stability of antioxidants by differential scanning calorimetry and electron spin resonance spectroscopy.** Food Chemistry. 2006.

GOBBO-NETO, L. e LOPES N. P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** Química Nova, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, T. C. B. de L. ***Peperomia pellucida* L. (H.B.K.): Caracterização, desenvolvimento e validação de metodologia para quantificação de flavonoides.** 2011. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GUIMARÃES, G. P. et al. **Thermoanalytical characterization of herbal drugs from *Poincianella pyramidalis* in different particle sizes.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. p.01-10, 2017.

GURBUZ, I., et al., **Antiulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey.** Journal of Ethnopharmacology, v.88, p. 93-97, 2003.

HOLANDA NETO, M. A. **Aplicação da Terogravimetria e Análise Térmica Diferencial de uma droga vegetal.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual da Paraíba.

HOSSEN, M. A. et al. **CNS depressan tand analgesic activities of Okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.).** Molecular and Clinical Pharmacology, v. 4, n. 1, p. 44-52, 2013.

JAIN N. et al., **A review on: *Abelmoschus esculentus*.** Pharmacia, v. 1, I. 3, 2012.

JOSHIA, S. V. et al., **Alteration of gastric mucus secretion in rats treated with *Abelmoschus esculentus* seed mucilage.** Der Pharmacia Lettre, v.3, n.5, p. 183-188, 2011.

KAMBLE M. A. et al. **Pharmacognostic and pharmacological studies of *Bombax ceiba* thorn extract.** Journal of Pharmacy e Pharmacognosy Research, v.5, n. 1, p.40-54, 2017.

KAMAL, H. **Encyclopaedia of Islamic medicine. General Egyptian.** Book Organization, 1975.

KOSTER, R. et al. **Acetic acid for analgesic screening.** Federation Proc, v.18, p.412-414. 1959.

LANGFIELD, R. D. et al., **Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galloides*.** Journal of Ethnopharmacology, v.94, p. 279-281, 2004.

LEITE, J. P. V. **Química dos produtos naturais: uma abordagem biossintética.** Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. São Paulo: Atheneu, 2008.

- LIMA, I. B. & BARBOSA M. R. de V. **Composição florística da RPPN fazenda almas, no cariri paraibano, Paraíba, Brasil.** Revista Nordestina de Biologia, v. 23, n.1, 2014.
- LIMA, M. R. F. **The antibiotic activity of some brazilian medicinal plants.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16, p. 300-306, 2006.
- LIMA, L.O.; GOMES, E.C. **Alimento ou medicamento? Espécies vegetais frente à legislação brasileira.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.16, n.3, p.771-782, 2014.
- LIN, H.P.; TEY, B.T.; CHAN, E.S. Particle designs for the stabilization and controlled-delivery of protein drugs by biopolymers: A case study on insulin. **Journal of Controlled Release**, v.186, p.11–21, 2014.
- LITCHFIELD, J.D. & WILCOXON, F.A. **Simplified method fevaluations dose effect experiments.** Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.v. 96,p 99-113. 1949.
- MA, M.M. & MU, T.H. **Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin.** Food Chem, v. 1, p.237-246, 2016.
- MACEDO, R.O. **Tecnologia analítica baseada na pirólise acoplada a cromatografia gasosa/espectrometria de massa para caracterização e obtenção de compostos químicos a partir de extratos de *Erythrina mulungu* Linne secos por nebulização.** PI 08005303. 2009a.
- MACEDO, R.O. **Tecnologia analítica baseada na pirólise acoplada a cromatografia gasosa/espectrometria de massa para caracterização e obtenção de compostos químicos a partir de extratos de *Matricaria Chamomilla* Linne secos por nebulização.** PI 08003440. 2009b.
- MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. **Vannilin-HCL method for condensed tannins: effect of organic solvents used for extraction of tannins.** Journal of Chemical Ecology, v. 19, n. 4, p. 613-621, 1993.
- MARQUES, G. S. et al., **Caracterização fitoquímica e físico-química das folhas de *Bauhinia forficata* Link coletada em duas regiões brasileiras.** Revista Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada n. 33, v. 1, p. 57-62, 2012.

- MECKES-LOZOYA, M., LOZOYA X. & GONZÁLEZ J. L. **Propriedades farmacológicas in vitro de alguns extratos de *Mimosa tenuiflora* (tepescohuite).** Archives de Investigación Médica, v. 21, n. 2, p. 163-169, 1990.
- MEDA, A. et al., **Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkin Fasan honey, as well as their radical scavenging activity.** Food Chemistry, v. 91, n. 3, p. 571-577, 2005.
- MELO, J. G. et al., **Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban).** Acta Bot Bras, v. 21, n. 1, p. 27-36, 2007.
- MELO, M. G. D. et al. **Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe.** Scientia Plena, v. 08, 2012.
- MESSING, J. et al., **Antiadhesive Properties of *Abelmoschus esculentus* (Okra) Immature Fruit Extract against *Helicobacter pylori* Adhesion.** PLoS One., v. 9, n.1, 2014
- MOLINA, M. et al., ***Mimosa pudica* may possess antidepressant actions in the rat.** Phytomedicine, v. 6, n.5, p. 319-323, 1999.
- MONTALVO, L., et al., **A screening for antimicrobial activities of Caribbean herbal remedies.** BMC Complementary and Alternative Medicine, v.13, p.126, 2013.
- MORAES, E. H. F., Alvarenga M. A., Ferreira Z. M. G. S. **As bases nitrogenadas de *Mimosa scabrella* Benth.** Química Nova, v. 13, p. 308-309, 1990.
- MOTA W. F.da et al. **COMPOSIÇÃO MINERAL DE FRUTOS DE QUATRO CULTIVARES DE QUIABEIRO.** Ciência e Agrotecnologia, v. 32, n. 3, p. 762-767, 2008
- MOTHÉ, C. G; MIRANDA, I. C. **Characterization of sugarcane and coconut fibers by thermal analysis and FTIR.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, n. 97, p. 661-665, 2009.

- NAIM, Z. et al. **Anti-Inflammatory, Analgesic and Anti-Nociceptive Efficacy of Peel of *Abelmoschus esculentus* Fruits in Laboratory Animal.** *Current Drug Therapy*, v. 10, n. 2, p. 113-121, 2015.
- NETTO, E. M. et al., **Comentários sobre o registro de fitoterápicos.** *Revista Fitos*, n. 3, v. 1, p. 09-17, 2006.
- NORIEGA, P. et al., **Thermal Characterization of *Passiflora edulis* Sims. (Maracujá) by TG/DTG and DSC.** In: *VII Congresso Brasileiro De Análise Térmica e Calorimetria (VII CBRATEC)*, 2010.
- NOVÁK, C. et al., **Characterization of *Lippia sidoides* oil extract- $\alpha$ -cyclodextrin complexes using combined thermoanalytical techniques.** *Journal of Thermal Analysis*, v.78: p.557-573, 2004.
- OLIVEIRA, E. J. et al., **Usefulness of pyrolysis coupled to gas chromatography/mass spectrometry for evaluating the reproducibility of commercial samples of *Cymbopogon citratus* Stapf., Poaceae.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 20, n1, p. 93-9, 2010.
- OLIVEIRA, F. R. et al., **Prospecção tecnológica: utilização de alcaloides no tratamento da doença de alzheimer technological forecasting: use of the alkaloids for the treatment of Alzheimer's disease.** *Revista Geintec*, v. 4, n.3, p.1017-1025, 2014.
- OLIVEIRA, M. A., YOSHIDA M. I. & GOMES E. C. L. **Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica.** *Química Nova*, v. 34, n. 7, p.1224-1230, 2011.
- OLIVEIRA, M. J. R., SIMÕES M. J. S. & ASSIS C. R. R. **Fitoterapia no Sistema de Saúde Pública (SUS) no Estado de São Paulo, Brasil.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n.2, p.39-41, 2006.
- PAN, J. et al. **Effect of Nitrogen and Fluorine Co-substitution on the Structure and Magnetic Properties of  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ .** *Journal of Physical Chemistry*, v.16, n.7, p1502–1508, 2015.
- PEREIRA, R. J. & CARDOSO M. G. **Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes.** *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, v. 3, n.4, p. 146-152, 2012.

PEREIRA, S. S. T. C. **Medicamentos fitoterápicos e drogas vegetais industrializados e oficializados pelo Ministério da Saúde no Brasil: regulamentação sanitária, abrangência e qualidade dos estudos pré-clínicos e clínicos.** 2005. Tese de Doutorado. Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca da Fundação Oswaldo Cruz.

PERES, E.P.P **Metabolismo secundário de plantas medicinais.** Disponível em <http://www.oleosessenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/>. Acesso em 25 de julho 2015.

PORTELLA, A. C. F. et al., **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DA *Siparuna guianensis* Aublet,** Química Nova, v. 37, n. 5, p.844-849, 2014.

PUGAZHENTHI, R. V. G. & KATIVA, V. Thermal degradation kinetics of sucrose palmitate reinforced poly(lactic acid) biocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.65, p.275–283, 2014.

RATES, S. M. K. **Plants as source of drugs.** Toxicon, v. 39, p. 603-613, 2001.

RIBEIRO, J. F. A. **Investigação Fitoquímica do Extrato Etanólico da *Peperomia pelúcida* L. (H.B.K.).** Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Pará, Belém, 2007. 47f, 2008.

RIET-CORREA, F.. **Plantas tóxicas e micotoxinas que afetam a reprodução em ruminantes e eqüinos no Brasil.** **Biológico**, São Paulo, v. 69, n.2, p.63-68, 2004b.

RIET-CORREA, F.; M EDEIROS, R.M.; N ETO, S.A.; TABOSA, I.M.; NOBRE, V.M.T. Malformações ósseas em caprinos na região semi-árida do nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.24, suplemento, p.49- 50, 2004.

RIVERA-ARCE E. et al., **Therapeutic effectiveness of a *Mimosa tenuiflora* cortex extract in venous leg ulceration treatment.** **Journal of Ethnopharmacology**, v.109(2007), p. 523–528.

RIZK R. M. & SOLIMAN M. I. **Caracterização genética bioquímica e molecular de algumas espécies da família Malvaceae.** **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.1, p. 167-176, 2014.

ROCHA, J.D; MESA PÉREZ, J.M; CORTEZ, L.A.B. **Aspectos teóricos e práticos do processo de pirólise de biomassa**. Universidade Federal de Itajubá – UNIFEI. Itajubá, 2004.

ROCHA, T. C. da. **Estudo termoanalítico de furano cumarinas de *Brosimum gaudichaudii* Trécul**. Dissertação apresentada ao Instituto de Química. Mestrado em Química. Universidade Federal de Goiás 2012

RODRIGUES, E., OTSUKA R.D. **Estratégias utilizadas para a seleção de plantas com potencial bioativo com ênfase nos métodos da etnobotânica e etnofarmacologia**. In: **Protocolos em psicofarmacologia comportamental: um guia para a pesquisa de drogas com ação sobre o SNC, com ênfase nas plantas medicinais**. FAP-UNIFESP, 2011.

SABITHA, V, et al., **Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench**. in **Streptozotocin - induced diabetic rats**. J Pharm Bioall Sci v.3: p. 397-402, 2011.

SANTANA, C. P. **Caracterização de extratos nebulizados de plantas medicinais por técnicas analíticas**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Estadual da Paraíba. 2014.

SANTOS, J. S. et al. **Beneficial effects of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan extract on the inflammatory and nociceptive responses in rodent models**. Journal of Ethnopharmacology, v.148,n.1, p. 218–222, 2013,.

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

SHAMMI, S. J. et al. **Comparative pharmacological studies of *Abelmoschus esculentus* Linn. Frui sand seeds**. Global Journal of Pharmacology, v. 8, n. 1, p. 98-106, 2004.

SILVA JÚNIOR, J. O. C et al., **Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale***. L. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, p. 671-677, 2006.

SILVA, L. B., et al., **Estudo comparativo da madeira de *Mimosa ophthalmocentra* Mart. ex Benth e *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Fabaceae-Mimosoideae) na caatinga nordestina**. Acta Botanica Basiliica, v.25, n.2, p.301-314, 2011.

SILVA, E. C. et al. Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 3, 2007.

SILVA, J. S. & SALES, M F. **O gênero mimosa (leguminosae-mimosoideae) na microrregião do Vale do Ipanema, Pernambuco.** *Rodriguésia*, v.59, n.3. p. 435-448 2008.

SIMÕES, C. M. O. & SCHENKEL, E. P. **A pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: a necessária interação da indústria com a academia.** *Revista Brasileira de Farmacognóssia*, v.12, n.1, p.35–40, 2007.

SIPES, I.G. & DART, R.C. **Farmacologia humana - da molecular à clínica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.740-749, 1997.

SOUSA, A. P. B. DE, et al. **PROPRIEDADES NUTRICIONAIS DO MAXIXE E DO QUIABO.** *Revista Saúde em foco*, v. 2, n. 1, p. 113-129, 2015.

SOUSA, F. C. F. et al., **Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais.** *Revista Brasileira de farmacognosia*, v.18, n.4, 2008.

SOUZA-MOREIRA, T. M., SALGADO H. R. N. & PIETRO R. C. L. R. **O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais.** *Revista Brasileira de farmacognosia*, v.20, p. 435-40, 2010.

STORPIRTIS, S. et al., **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2009.

TAIYE, A. O. et al., **Anti-Helicobacter pylori activity of *Abelmoschus esculentus* L. Moench (okra): An in vitro study.** *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, v. 7 n.9, p. 330-336, 2013.

TELES, R. de M. **Caracterização química, avaliação térmica e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* do Óleo Essencial da Espécie Vegetal *Aniba duckei* Kostermans.** 2009. Tese de doutorado. Universidade Federal da Paraíba.

TOBIAS, M. L. et al., **Controle de qualidade de drogas vegetais de Farmácias de manipulação de Maringá (Paraná - Brasil).** *Revista Eletrônica de Farmácia*, v. 4, n. 1, p. 95-103, 2007.

TONGJAROENBUANGAM, W. et al., **Neuroprotective effects of quercetin, rutin and okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.) in dexamethasone-treated mice.** *Neurochemistry International*, v.59, p. 677–685, 2011.

UMOH, I. et al. **Chronic consumption of *Abelmoschus esculentus* and *Piper Guineense* induce testicular-toxicity in wistar rats, histopathological finding.** *Advances in Life Science and Technology*, v. 14, 2013.

VALOTTO, C. F. B. et al., **Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno labdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae).** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n.2, p. 194-200, 2011.

VEIGA JUNIOR, V. F., PINTO A. C. & MACIEL M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura?** *Química Nova*, v. 28, p. 519-528, 2005.

VILLEGAS, I. et al. **Gastric damage induced by subchronic administration of preferential cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 inhibitors in rats.** *Pharmacology*, v. 66, n. 2, p. 68-75, 2002.

WANG, L. et al., **Application of pyrolysis-gas chromatography and hierarchical cluster analysis to the discrimination of the Chinese traditional medicine *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.** *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 90: p. 13-7, 2011.

WANG, L. et al., **Direct analysis of alkylphenols in *Ginkgo biloba* leaves by thermochemolysis–gas chromatography/mass spectrometry in the presence of tetramethylammonium hydroxide.** *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 85, p.66-71, 2009.

WASHINGTON, D. C. **Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.** *Institute for Laboratory Animal Research, National Research Council. National Academy of Sciences.* p.248. 2010.

WEISHEIMER, N. et al. **Fitoterapia como alternativa terapêutica no combate à obesidade.** *Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança*, v. 13, n.1, p.103-11, 2015.

WERKMAN, C. et al., **Aplicações terapêuticas da *Punica granatum* L. (romã).** *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.10, n.3, p.104-111, 2008.

WESOŁOWSKI, M.; KONIECZYNSKI, P. **Thermoanalytical, chemical and principal component analysis of plant drugs.** International Journal of Pharmaceutics. v. 262, p. 29-37, 2003.

ZANIN, S. M. W, LORDELLO A. L. L. **Aporphine alkaloids in *Ocotea* species (Lauraceae).** Quim Nova, v.30, p. 92-98, 2007.

ZARONI, M. et al., **Qualidade microbiológica das plantas medicinais produzidas no estado do Paraná.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.14, n.1, p. 29-39, 2004.

ZUIN, V. G., YARIWAKE, J. H. BICCHI, C. **Avaliação da qualidade de drogas vegetais a base de *Passiflora* spp. Comercializadas no Brasil: presença de resíduos de pesticidas.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.6, n.2, p. 60-66, 2004.