

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO**

PATRÍCIA ANGÉLICA ALEXANDRE

**Atividade antitrombótica do chá de *Scleria pterota* em ratos Wistar**

Uberaba/MG

2019

PATRÍCIA ANGÉLICA ALEXANDRE

**Atividade antitrombótica do chá de *Scleria pterota* em ratos Wistar**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Interdisciplinar em Biociências Aplicadas, área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine

Colaboradora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Acrani

Uberaba/MG

2019

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do  
Triângulo Mineiro**

A369a Alexandre, Patrícia Angelica  
Atividade antitrombótica do chá de *Scleria pterota* em ratos *Wistar* /  
Patrícia Angelica Alexandre. -- 2019.  
60 f. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Interdisciplinar em Biociências Aplicadas) --  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2019  
Orientadora: Profa. Dra. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine  
Coorientador: Profa. Dra. Simone Acrani

1. Sangue - Coagulação. 2. Tromboembolismo. 3. Anticoagulantes  
(Medicina). 4. Chá - *Scleria pterota*. I. Vicentine, Karina Ferrazzoli  
Devienne. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 615.273

PATRÍCIA ANGÉLICA ALEXANDRE

**Atividade antitrombótica do chá de *Scleria pterota* em ratos Wistar**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Interdisciplinar em Biociências Aplicadas, área de concentração - Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

2 de setembro de 2019.

Banca Examinadora:



---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro



---

Prof. Dr. Ricardo José de Mendonça  
Universidade Federal do Triângulo Mineiro



---

Prof. Dr. Bruno Rodrigues da Silva  
Universidade de Uberaba

Dedico este trabalho ao meu pai Jacob Tadeu Alexandre (*in memorian*) que me transmitiu o gosto pelas plantas medicinais, e ao Senhor Raul Conde (*in memorian*), médico e pesquisador da fitoterapia, que tinha um carinho especial pela espécie *Scleria pterota*.

## AGRADECIMENTOS

À minha mãe Euripa Barbosa Alexandre e minha irmã Letícia Cristina Alexandre pelo amor incondicional;

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine pela confiança em mim, por compartilhar tantos conhecimentos e pela dedicação durante a realização deste trabalho;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Acrani, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marlene Cabrine dos Santos Silva, docentes do PIBA e demais professores do Instituto de Ciências Biológicas e Naturais (ICBN) pelas relevantes contribuições que resultaram nesta produção;

Aos servidores técnico-administrativos do ICBN: Angélica Cristina Alves da Cruz, Douglas Cobo Micheli, Januário Barbosa dos Santos Júnior e Lourimar José de Moraes e o servidor Anderson de Oliveira Vieira do Laboratório Clínico do Instituto de Ciências da Saúde, colegas de trabalho, que dispuseram de seus conhecimentos e habilidades para abrilhantar esta pesquisa;

À Simone Rocha de Oliveira, companheira de Mestrado, pela disposição em me auxiliar na realização dos experimentos;

À empresa Labtest® Diagnóstica SA, pela doação de diversos reagentes, possibilitando a execução dos testes bioquímicos;

À Deus, por todas as bênçãos e oportunidades de crescimento que recebo todos os dias.

*“A fé é uma estrela luminosa que guia o investigador através dos segredos da natureza. Se possuis essa fé, Deus vos revelará a verdade.”*

PARACELSO

## RESUMO

A trombose venosa profunda é a maior causa de óbitos intra-hospitalares no mundo, com incidência anual de 16 casos para cada 10.000 habitantes, nos países ocidentais. Vários agentes anticoagulantes e antitrombóticos são utilizados na prevenção e tratamento destas doenças, no entanto, poucas são as possibilidades terapêuticas administradas por via oral. Tais tratamentos apresentam limitações significativas, fato que promove a busca por novos fármacos anticoagulantes. Atualmente, algumas comunidades rurais vêm utilizando, de forma empírica, a espécie *Scleria pterota*, conhecida popularmente por navalha de mico ou capim navalha, como alternativa terapêutica no tratamento do tromboembolismo. Este trabalho objetivou verificar a ação do chá de folhas de *S. pterota* sobre alguns parâmetros envolvidos na coagulação sanguínea em ratos Wistar, além de analisar a presença de alguns grupos de substâncias no fitoterápico. O extrato aquoso desta espécie demonstrou eficácia na diminuição da formação de trombo e aumento do tempo de coagulação, efeito encontrado na presença de compostos fenólicos, taninos, flavonóis, flavonas e cumarinas dentre os constituintes fitoquímicos avaliados. Também foi verificada redução nos níveis de colesterol total e fração colesterol-LDL em ratos tratados com o fitoterápico. A análise de sinais clínicos para toxicidade sugere que o uso de *S. pterota* seja seguro. Diante dos resultados, o chá de folhas de *S. pterota* revela-se como promissor fitoterápico para o tratamento de doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: *Scleria pterota*. Coagulação sanguínea. Anticoagulante. Antitrombótico.

## ABSTRACT

Deep vein thrombosis is the leading cause of in-hospital deaths worldwide, with an annual incidence of 16 cases per 10.000 inhabitants in Western countries. Several anticoagulant and antithrombotic agents are used in the prevention and treatment of diseases, however, there are few therapeutic possibilities administered orally. Such treatments presented significant restrictions, a fact that promotes a search for new anticoagulant drugs. At present, some rural communities have been using, in an empirical way, the species *Scleria pterota*, popularly known as monkey razor or razor grass, as a therapeutic alternative in the treatment of thromboembolism. This study aimed to verify the action of *S. pterota* leaf tea on some parameters involved in blood coagulation in Wistar rats, and to analyze the presence of some groups of substances in the herbal medicine. The aqueous extract of this species showed efficacy in reducing thrombus formation and increasing clotting time, an effect found in the presence of phenolic compounds, tannins, flavonols, flavones and coumarins among the phytochemical constituents evaluated. There was also a reduction in total cholesterol and LDL-cholesterol fraction in rats treated with herbal medicine. The analysis of clinical signs for toxicity suggests that the use of *S. pterota* is safe. Given the results, *S. pterota* leaf tea is a promising herbal remedy for the treatment of cardiovascular diseases.

Keywords: *Scleria pterota*. Blood coagulation. Anticoagulant. Antithrombotic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|            |  |    |
|------------|--|----|
| Figura 1 – | Representação esquemática da cascata de coagulação .....                                 | 18 |
| Figura 2 – | Espécie vegetal <i>Scleria pterota</i> .....   | 21 |
| Figura 3 – | Resultado da análise do teste para detecção de cumarina .....                            | 33 |
| Figura 4 – | Resultado da determinação qualitativa da presença de alcalóides .....                    | 34 |
| Figura 5 – | Efeito de diferentes tratamentos sobre o ganho ponderal de ratos<br>Wistar .....         | 35 |
| Figura 6 – | Ingestão sólida diária de ratos Wistar submetidos a diferentes<br>tratamentos .....      | 35 |
| Figura 7 – | Ingestão hídrica diária de ratos Wistar submetidos a diferentes<br>tratamentos .....     | 36 |
| Figura 8 – | Aspecto da maravalha que acomodavam animais submetidos a<br>diferentes tratamentos ..... | 36 |
| Figura 9 – | Efeito de diferentes tratamentos sobre o peso do trombo formado em<br>ratos Wistar ..... | 39 |

## LISTA DE TABELAS

|            |   |    |
|------------|---|----|
| Tabela 1–  | Valores dos parâmetros bioquímicos de ratos após tratamento ..... | 37 |
| Tabela 2 – | Valores de TTPA, TP e FIB de ratos após tratamento .....          | 38 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

|        |  |
|--------|--|
| µL     | Microlitro   |
| ADP    | Adenosina difosfato  |
| AAS    | Ácido acetilsalicílico   |
| ABNT   | Associação Brasileira de Normas Técnicas                                     |
| ANOVA  | Análise estatística de variância   |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                                     |
| BR     | Rodovia federal  |
| CEUA   | Comissão de Ética em Uso de Animais  |
| cm     | Centímetro   |
| dL     | Decilitro  |
| EAG    | Equivalente de Ácido Gálico  |
| EAT    | Equivalente de Ácido Tânico  |
| EQ     | Equivalente de Quercertina   |
| FAP    | Fator de agregação plaquetária   |
| FIB    | Fibrinogênio   |
| FIX    | Fator IX (coagulação)  |
| FIXa   | Fator IX ativado   |
| FT     | Fator Tecidual   |
| FV     | Fator V (coagulação)   |
| FVa    | Fator V ativado  |
| FVII   | Fator VII (coagulação)   |
| FVIIa  | Fator VII ativado  |
| FVIII  | Fator VIII (coagulação)  |
| FVIIIa | Fator VIII ativado   |
| FX     | Fator X (coagulação)   |
| FXa    | Fator X ativado  |
| FXIII  | Fator XIII (coagulação)  |
| FXIIIa | Fator XIII ativado   |
| g      | Gramma   |
| HDL    | do inglês <i>High Density Lipoproteins</i> (lipoproteínas de alta densidade) |

|        |  |
|--------|--|
| Kg     | Kilograma  |
| LDL    | do inglês <i>Low Density Lipoproteins</i> (lipoproteínas de baixa densidade) |
| LTDA   | Limitada   |
| M      | Molar  |
| mg     | Miligrama  |
| mL     | Mililitro  |
| N      | Normal   |
| nm     | nanometro  |
| NOAC   | Novos anticoagulantes  |
| PT     | Protrombina  |
| rpm    | Rotações por minuto  |
| s      | Segundos   |
| SA     | Sociedade Anônima  |
| TC     | Tempo de Coagulação  |
| TGO    | Transaminase glutâmico oxalacética   |
| TGP    | Transaminase glutâmico pirúvica  |
| TP     | Tempo de Protrombina   |
| TTPA   | Tempo de Protrombina Parcialmente Ativada                                    |
| UFTM   | Universidade Federal do Triângulo Mineiro                                    |
| UFU    | Universidade Federal de Uberlândia   |
| UNAERP | Universidade de Ribeirão Preto   |
| v/v    | Volume/volume  |

## LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca Registrada

°C Graus Celsius

## SUMÁRIO

|  | <b>Página</b> |
|--|---------------|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 15            |
| <b>2 OBJETIVOS</b> .....   | 23            |
| 2.1 OBJETIVO GERAL .....   | 24            |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                  | 24            |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....                               | 25            |
| 3.1 COLETA DE MATÉRIA-PRIMA VEGETAL .....                        | 26            |
| 3.2 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA .....                                 | 26            |
| 3.3 PREPARAÇÃO DO FITOTERÁPICO .....                             | 26            |
| 3.4 <i>SCREENING</i> FITOQUÍMICO .....                           | 26            |
| 3.4.1 Quantificação de fenóis totais .....                       | 26            |
| 3.4.2 Identificação e quantificação de taninos .....             | 27            |
| 3.4.3 Determinação e quantificação de flavonóides .....          | 27            |
| 3.4.4 Identificação de alcalóides .....                          | 27            |
| 3.4.5 Identificação de cumarinas .....                           | 28            |
| 3.5 EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL .....                                  | 28            |
| 3.5.1 Análise dos parâmetros fisiológicos .....                  | 29            |
| 3.5.2 Análise dos parâmetros bioquímicos .....                   | 29            |
| 3.5.3 Avaliação da atividade antitrombótica <i>ex vivo</i> ..... | 30            |
| 3.5.3.1 <i>Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada</i> .....     | 30            |
| 3.5.3.2 <i>Tempo de Protrombina</i> .....                        | 30            |
| 3.5.3.3 <i>Ensaio de Fibrinogênio</i> .....                      | 30            |
| 3.5.3.4 <i>Tempo de Coagulação</i> .....                         | 30            |
| 3.5.4 Modelo <i>in vivo</i> de trombose venosa .....             | 31            |
| 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                    | 31            |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4 RESULTADOS .....</b>                           | <b>32</b> |
| 4.1 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA .....                | 33        |
| 4.2 EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL .....                     | 34        |
| 4.2.1 Análise dos parâmetros fisiológicos .....     | 34        |
| 4.2.2 Análise dos parâmetros bioquímicos .....      | 37        |
| 4.2.3 Atividade antitrombótica <i>ex vivo</i> ..... | 38        |
| <b>5 DISCUSSÃO .....</b>                            | <b>40</b> |
| <b>6 CONCLUSÃO .....</b>                            | <b>46</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                            | <b>48</b> |
| <b>ANEXO .....</b>                                  | <b>54</b> |

## ***1. INTRODUÇÃO***

---

---

As doenças tromboembolíticas, as quais incluem trombose venosa profunda dos membros inferiores e superiores, embolia pulmonar e insuficiência venosa crônica, constituem as maiores causas de óbitos intra-hospitalares no mundo, apesar de, paradoxalmente, serem evitáveis. Somente os casos de trombose venosa profunda possuem incidência anual de 16 casos para cada 10.000 habitantes nos países ocidentais. Tais doenças podem evoluir para outras complicações, tais como: acidente vascular cerebral, eventos cardiovasculares, doença arterial periférica e até afetar locais incomuns, como a circulação esplênica [OYARZÚN; HELLER, 2019].

Frequentemente, o tromboembolismo acomete pessoas submetidas a cirurgias de médio e grande porte, infecções graves, traumatismos e fase final gestacional ou puerpério, além de possibilidade de ocorrência em pessoas que fazem uso de anticoncepcionais ou tratamento hormonal, tabagistas, portadores de varizes, pacientes com insuficiência cardíaca, tumores malignos, obesidade ou história prévia de trombose venosa [SBACV, 2019]. Tais situações podem desencadear problemas tromboembolíticos devido à alteração na suavidade da superfície endotelial vascular e/ou à lentidão do fluxo sanguíneo, provocando desequilíbrio na produção de fatores coagulantes e anticoagulantes, induzindo a trombose [GUYTON, 2017].

A patogênese da trombose resulta da complexa interação entre as células do sangue, o endotélio e o sistema de coagulação. Números aumentados de hemácias, leucócitos e plaquetas, acoplados a anormalidades qualitativas, favorecem um fenótipo protrombótico, contribuindo para o estado de hipercoagulabilidade [OYARZÚN; HELLER, 2019].

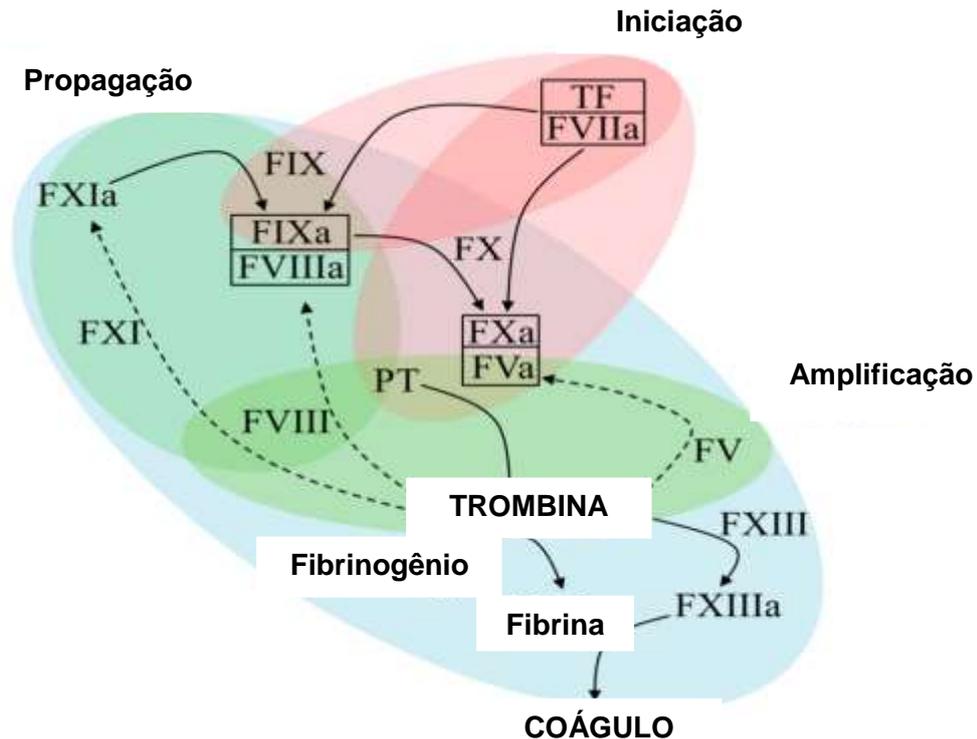
Fisiologicamente, o organismo tenta manter o controle dos processos de coagulação através da hemostasia, a qual corresponde a uma série complexa de fenômenos biológicos que ocorrem em resposta imediata à lesão de um vaso sanguíneo, com a finalidade de manter a fluidez necessária do sangue, sem haver extravasamento sanguíneo ou obstrução do fluxo pela presença de coágulos [PESSOTI *et al*, 2014].

O sistema hemostático é composto por plaquetas (formam um agregado plaquetário sobre o endotélio alterado para iniciar a formação do tampão hemostático), fatores de coagulação (pró-enzimas produzidas pelo fígado que, através da cascata de coagulação, são ativadas e resultam na formação de fibrina), fatores fibrinolíticos (enzimas que dissolvem o coágulo para controle de sua extensão), inibidores proteicos (regulam os fatores de

coagulação) e células endoteliais (revestem os vasos sanguíneos e contribuem para a manutenção do fluxo sanguíneo) [CASTRO *et al*, 2006].

O processo de coagulação é iniciado pela exposição de Fator Tecidual (FT) na corrente sanguínea pela lesão tecidual ou pela ativação de células endoteliais ou monócitos. Muitas evidências sugerem que o FT esteja presente no sangue em micropartículas celulares provenientes de membranas fragmentadas, como leucócitos e células endoteliais, bem como de plaquetas [FERREIRA *et al*, 2010]. A cascata da coagulação ocorre simultaneamente através da via intrínseca (fator (F) XII que converte o FXI e este ativa o FIX; o FIX, por sua vez, vai ativar o FX na presença do fator ativado (FVIIIa)) e extrínseca (FT, liga-se ao FVII. O complexo FVIIa-FT ativa o FX). Estas duas vias terminam na via comum, onde o FXa converte a protrombina (FIIa), na presença do cofator Va, em trombina. Esta última vai transformar o fibrinogênio em fibrina que estabiliza o trombo plaquetário [AFONSO *et al*, 2016].

Nas últimas décadas tem-se compreendido melhor o processo hemostático considerando a interrelação dos processos físicos, celulares e bioquímicos que atuam em uma série de estágios e fases denominadas: iniciação, amplificação, propagação e finalização. Nesse modelo (Figura 1), a fase de iniciação da coagulação é desencadeada pela interação do FT com o FVIIa que converte o FIX em FIXa e FX em FXa. Esta última é a protease chave que, em complexo com o cofator FV em sua forma ativada (FVa), está diretamente envolvida na geração de trombina. Nesses passos sequenciais, a trombina também aumenta sua própria produção através da ativação de plaquetas e reações de retroalimentação conhecidas como fases de amplificação e propagação, durante as quais um ciclo de retroalimentação crucial ativa o FXI (FXIa) que aumenta a quantidade de FIXa. A interação do FIXa com a forma ativada do cofator-chave FVIII (FVIIIa) intensifica fortemente a produção de FXa que, em associação com o FVa, impulsiona ainda mais o chamado estouro de trombina responsável pela produção em larga escala de trombina necessária para produzir o coágulo final. De fato, a grande quantidade de trombina gerada converte o fibrinogênio em fibrina insolúvel, além de ativar a transglutaminase FXIII (FXIIIa), que estabiliza o coágulo por meio da reticulação das cadeias de fibrina [BALESTRA; BRANCHINI, 2019].



**Figura 1** - Representação esquemática da cascata de coagulação, mostrando as várias reações diretas (linhas pretas) ou *feedback* (linhas pontilhadas) que podem ser subdivididas em fases de iniciação (vermelho), amplificação (verde) e propagação (azul), levando a formação do coágulo de fibrina. Os itens em caixa indicam a interação de enzimas ativas (FVIIa, FXa, FIXa) com seus cofatores (TF, FVa, FVIIIa). F: fator; a:ativado; PT: protrombina; TF: fator tecidual. Fonte: Adaptado de: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/12/3036>

O tratamento farmacológico do tromboembolismo deve ser iniciado rapidamente a fim de controlar o aumento do trombo, impedir a extensão, mantendo-o limitado, objetivando a diminuição de sequelas futuras e evitar a embolia pulmonar ou complicações cardiovasculares, além de prevenir sua recorrência precoce ou tardia [MAFFEI *et al*, 2015]. Os fármacos antitrombóticos empregados no tratamento são: anticoagulantes, que atenuam a formação de fibrina, antiplaquetários, que inibem a agregação plaquetária e agentes fibrinolíticos que degradam a fibrina [BRUNTON *et al*, 2015].

A escolha terapêutica antitrombótica está relacionada à diferença do tipo de coágulo formado. Na trombose venosa, a ativação da cascata de coagulação resulta na formação de um coágulo vermelho, constituído por hemácias e fibrina, tradicionalmente tratado com anticoagulantes, devido à relação direta com a coagulação. Em outras doenças, o trombo formado é arterial, rico em plaquetas, tendo aparência de um coágulo branco, justificando o uso de antiplaquetários para inibição de sua formação [CASTRO *et al*, 2006].

As drogas antiplaquetárias são, frequentemente, utilizadas em eventos trombóticos cardiovasculares. Atuam através da inibição da ciclooxigenase, interferindo no metabolismo do ácido araquidônico e, conseqüentemente, impedem a agregação plaquetária e reduzem a formação de trombos. O ácido acetilsalicílico (AAS), fármaco desenvolvido a partir da salicilina, substância isolada de espécies *Salix sp.*, é o medicamento mais comumente utilizado como antiplaquetário na prevenção de doenças cardiovasculares. No mercado também há outros antiplaquetários orais disponíveis, tais como o clopidogrel e ticlodipina, além do abciximab, um antiplaquetário de uso intravenoso [RANG *et al.*, 2011].

Já os anticoagulantes não afetam diretamente as plaquetas, pois atuam sobre os fatores de coagulação. A terapêutica clássica para o tratamento de doenças tromboembólicas recomenda a utilização de heparina (anticoagulante endovenoso), num período inicial de 7 dias de tratamento. Subseqüentemente, há um período chamado de longa duração, no qual ocorre a transição de terapia intravenosa / subcutânea para a terapia oral, devendo ser mantida por, pelo menos, três meses [FERNANDES *et al.*, 2016]. Nessa substituição, os fármacos mais utilizados são os antagonistas de vitamina K, sendo a varfarina, a principal representante dessa categoria de medicamentos. Este fármaco, da classe dos cumarínicos, foi desenvolvido a partir de protótipo extraído de *Melilotus officinalis* e produz seu efeito ao interferir na conversão cíclica da vitamina K, bloqueando a síntese de fatores de coagulação dela dependentes (fatores II, VII, IX e X). Os derivados cumarínicos compreendem uma grande classe de substâncias fenólicas presentes em diferentes espécies vegetais e que possuem atividades anti-inflamatórias e antioxidantes significativas, podendo ser potencialmente utilizados para tratar várias doenças (queimaduras, doenças reumáticas, tumores) [KONTOGIORGIS *et al.*, 2015]. Após três meses, deve haver uma reavaliação da necessidade de manutenção da terapia anticoagulante, que será mantida se o benefício da anticoagulação superar o potencial prejuízo (risco de sangramento) [KEARON *et al.*, 2016]. Outros inconvenientes do uso da varfarina são as interações dietéticas e medicamentosas associadas ao seu uso, assim como interferência na qualidade de vida do paciente [FERNANDES *et al.*, 2016].

Na última década, surgiram novos medicamentos anticoagulantes (NOAC) com propriedades que visam aprimorar a terapêutica laboratorial de anticoagulação, visto que não requerem monitoramento plasmático [FERNANDES *et al.*, 2016]. Esses agentes são inibidores sintéticos, seletivos e reversíveis do fator Xa (rivaroxabana, apixabana e edoxabana) ou inibição direta da trombina (dabigatrana) [BECATTINI; AGNELLI, 2016]. A

dabigatrana foi o primeiro NOAC a ser avaliado de forma sistemática para o tratamento de tromboembolismo venoso, demonstrando ser tão eficaz quanto a varfarina e superior no quesito “risco de sangramento”. O uso dos NOACs ainda suscitam dúvidas em razão do período de farmacovigilância, mas acredita-se que a segurança na prescrição e o manejo das suas complicações se consolidem pelo tempo de uso e com a prática clínica [FERNANDES *et al*, 2016].

Além dos antiplaquetários e anticoagulantes, os fármacos fibrinolíticos também são utilizados no tratamento de doenças tromboembólicas, os quais promovem a lise da fibrina e consequente dissolução do trombo. Esse efeito baseia-se na transformação do plasminogênio em plasmina, sob ação de uma potente enzima proteolítica. Três gerações de fibrinolíticos estão disponíveis no mercado: estreptoquinase, alteplase e tenecteplase. As complicações hemorrágicas, como a hemorragia intracraniana, e a inexperiência na administração, tem sido fatores agravantes na sobrevida dos pacientes que utilizam os fibrinolíticos, tornando o uso desta classe de medicamentos bastante criteriosa [BARUZZI *et al*, 2018].

Apesar das opções terapêuticas no mercado, a indústria farmacêutica ainda busca novas substâncias que apresentem o máximo de atividade antitrombótica, o mínimo de risco hemorrágico e efeitos colaterais, que seja passível de administração por qualquer via, de fácil neutralização em caso de complicação ou urgência, e, principalmente, que seja de baixo custo, permitindo a aquisição e uso pela maioria dos pacientes [BOUÇAS *et al*, 2012].

Como alternativa, a fitoterapia tem-se apresentado como importante possibilidade terapêutica. O interesse em pesquisas nesta área tem aumentado nos últimos anos em função da comprovação científica da eficácia terapêutica de muitas espécies vegetais, as quais eram utilizadas de forma empírica pela população, em diversas regiões do país [SIMÕES *et al*, 2017].

Em Minas Gerais, há mais de 20 anos, um grupo formado por pesquisadores acadêmicos e “raizeiros”, estudam e utilizam diferentes espécies vegetais como fonte medicamentosa para os mais diversos tratamentos. Esse grupo organizou-se e fundou a Reserva Ecocerrado do Brasil, uma organização da sociedade civil de interesse público e Reserva Particular do Patrimônio Natural, localizada no km 715 da rodovia BR-262, região de Araxá/MG. Os membros da equipe promovem a conservação e uso sustentável da flora medicinal, o estudo e pesquisa da fitoterapia e a produção de matéria prima vegetal e fitoterápicos, os quais são distribuídos gratuitamente à população. Todo o processo de

produção destes remédios, desde a coleta, processamento e dispensação aos pacientes, obedece à normas registradas e fiscalizadas pela Agência de Vigilância Sanitária.

Dentre as plantas dispensadas à população, está a *Scleria pterota*, popularmente conhecida por navalha de mico ou capim navalha, espécie utilizada para o tratamento do tromboembolismo. *Scleria* é um gênero botânico com denominação de origem grega, que significa “dureza” em referência a resistência das sementes [FERNALD, 1970]. Tal gênero é pertencente à família das Cyperaceae e distribuído em todo território.

A espécie *Scleria pterota* C. Presl é nativa do Brasil, encontrada na região sudeste, região Amazônica e planície litorânea. Cresce em locais úmidos e sombreados como pastagens, margens de canais, bordas de mata e capoeira, sendo classificada como invasora ou daninha, pois se prolifera com facilidade em regiões brejeiras de clima tropical, além de ser indesejada por pecuaristas, por causa das folhas e caules afiados [LORENZI; MATOS, 2008]. Apresenta folhas brilhantes com margens cortantes, ereta, entouceirada, de caules triangulados com bordos ou quinas espinulosas e cortantes, medindo 50 a 100 cm de altura, com propagação por sementes e rizomas. As inflorescências apresentam-se paniculadas, em número de 2 a 3, rígidas, medindo de 5 a 8 cm de comprimento, com uma bráctea foliácea do mesmo comprimento na base de cada uma, o fruto aquênio globoso, ligeiramente deprimido, de 2,5mm de diâmetro, branco ou vítreo, liso e curtamente viloso na base (Figura 2) [LORENZI; MATOS, 2008].



**Figura 2** – *Scleria pterota*: à esquerda, vegetal em touceira em ambiente úmido, característico da espécie; à direita, detalhe da presença de inflorescências. Fonte: [http://international\\_extension.ifas.ufl.edu/LaFlor/weeds-of-costa-rica/index.shtml](http://international_extension.ifas.ufl.edu/LaFlor/weeds-of-costa-rica/index.shtml)

Na literatura científica, são escassas as informações quanto às propriedades biológicas da *S. pterota*, sendo encontrados alguns registros sobre a ação inibitória do extrato aquoso de *S. pterota* para a atividade fosfolipásica dos venenos de *Bothrops jararacuçu*, *B. alternatus*, *B. moojeni*, *B. neuwiedi* e *Crotalus durissus terrificus*, inibição do efeito coagulante induzido pelo veneno de *B. jararacuçu* [FERNANDES, 2004] e propriedades antibacteriana e antifúngica de extrato etanólico bruto e frações [MOURA *et al*, 2006]. Na medicina popular e tradicional, plantas do gênero *Scleria* são utilizadas como diuréticas, diaforéticas e no combate à tosse crônica [CORRÊA, 1984]. Tal aplicação corrobora com os resultados verificados pela equipe da Reserva Ecocerrado onde os pacientes relataram melhora na circulação sanguínea, com diminuição de inchaço nos membros inferiores, além da melhora na aparência de tecidos necrosados.

Diante do exposto, verifica-se a necessidade de avaliar e comprovar as propriedades farmacológicas da *S. pterota*. Atualmente, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) orienta para a condução de estudos não clínicos de segurança durante o desenvolvimento de medicamentos, com o objetivo de avaliar potencialidades terapêuticas e verificar possíveis efeitos prejudiciais no organismo. Desta forma, vislumbra-se a possibilidade de aplicação sábia e segura de fitoterápicos no atendimento à saúde primária, além de desenvolver terapias alternativas de menor custo financeiro, bem como proporcionar benefícios para a saúde e melhoria da qualidade de vida da população brasileira.

## ***2. OBJETIVOS***

## 2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito farmacológico do fitoterápico sobre os parâmetros envolvidos em processos trombóticos, além de identificar os grupos fitoquímicos presentes no chá das folhas de *S. pterota*.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Identificar e/ou quantificar os seguintes grupos fitoquímicos presentes no chá de *S. pterota*: fenóis totais, taninos, flavonóides, alcalóides e cumarinas;
- Monitorar alguns parâmetros fisiológicos de ratos em tratamento com o chá de *S. pterota*: ingestão diária de água e ração, peso corporal e mortalidade;
- Verificar alterações nos índices bioquímicos dos ratos tratados com chá de *S. pterota*: glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, uréia, ácido úrico, creatinina, transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP);
- Avaliar a atividade antitrombótica *ex vivo* dos ratos tratados com o fitoterápico, através da determinação do tempo de tromboplastina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), fibrinogênio (FIB) e tempo de coagulação;
- Investigar a atividade antitrombótica *in vivo* em ratos submetidos ao tratamento fitoterápico através da indução de trombose venosa.

### ***3. MATERIAIS E MÉTODOS***

---

### **3.1 Coleta de matéria prima vegetal**

O vegetal foi coletado em região localizada aos 19°34'1,0" de latitude Sul e 46°39'19,6" de longitude Oeste, com 1265m de altitude, aferidos no aparelho GPS Garmin Nuvi 2565LT, área rural da cidade de Araxá/MG, em 04 de abril de 2017. A coleta foi acompanhada por integrantes da equipe da Reserva Ecocerrado Brasil. Posteriormente, as folhas foram submetidas a secagem, sob folhas de jornal, em temperatura ambiente, durante quatro semanas.

### **3.2 Identificação botânica**

A identificação da espécie foi realizada pela Ms. Valéria Sieiro Conde Corrêa, responsável técnica pela Reserva Ecocerrado do Brasil. A exsicata desta espécie encontra-se depositada no Herbário da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), sob o código ID1693.

### **3.3 Preparação do fitoterápico**

O chá foi preparado, diariamente, por infusão utilizando uma porção de 10 g de folhas secas e trituradas em 1 L de água, por 10 minutos, conforme orientação da equipe da Reserva Ecocerrado do Brasil. Após a infusão, a preparação foi coada em papel filtro e utilizada nos experimentos à temperatura ambiente.

### **3.4 *Screening* fitoquímico**

#### **3.4.1 Quantificação de fenóis totais**

A quantificação de compostos fenólicos foi realizada através da técnica espectrofotométrica utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Uma alíquota de 7,5 mL do chá foi transferida para uma proveta de 50 mL e o volume completado com metanol. Posteriormente, 50 µL dessa solução foram adicionados a 250 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, 3 mL de água destilada e o tubo agitado por 1 minuto. Decorrido esse período, foi adicionado 1 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 15%, a solução foi agitada por 30 segundos e o volume completado para 5 mL. Após 2 horas, leitura espectrofotométrica da amostra foi realizada em 750 nm [BONOLI *et al*, 2004; SOUSA *et al*, 2007]. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com

padrões de ácido gálico e expressos em mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por mL de chá. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (SD).

#### **3.4.2 Identificação e quantificação de taninos**

Uma alíquota de 1 mL do chá de *S. pterota* foi misturada a 1 mL de reagente de Folin-Denis (20g de tungstato de sódio, 4 g de ácido fosfomolibdico e 10 ml de ácido fosfórico em 150 mL de água destilada) sendo a solução agitada vigorosamente e deixada em repouso por 3 minutos. Posteriormente, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 8% e submetida à agitação. Após 2 horas em repouso, foi centrifugada a 2000 rpm e a leitura espectrofotométrica do sobrenadante foi realizada em 750 nm. O teor de taninos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido tânico. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  SD e expressos em mg de EAT (equivalentes de ácido tânico) por mL de chá. As análises foram realizadas em triplicata [SEIGLER *et al*, 1986].

#### **3.4.3 Determinação e quantificação de flavonóides**

O conteúdo de flavonóis presente no chá de *S. pterota* foi determinado através de método colorimétrico utilizando cloreto de alumínio, que forma um complexo ácido estável com o grupamento cetona do C4 ou hidroxil dos C3 ou C5. O chá foi ressuspendido em etanol 80% e 500  $\mu$ L desta solução foram misturados a 1500  $\mu$ L de etanol 95%, 100  $\mu$ L de cloreto de alumínio 10%, 100  $\mu$ L de acetato de potássio 1M e 2800  $\mu$ L de água destilada. Após 30 minutos, a temperatura ambiente, leitura espectrofotométrica foi realizada em 405 nm. O conteúdo de flavonóis e flavonas foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com diferentes concentrações de quercetina. Os resultados foram apresentados como média  $\pm$  SD e expressos em mg de EQ (equivalentes de quercetina) por mL de chá. As análises foram realizadas em triplicata [CHANG *et al*, 2002].

#### **3.4.4 Identificação de alcalóides**

A análise qualitativa de alcalóides no chá de *S. pterota* foi realizada através de método descrito por COSTA [2002], que utiliza os reagentes de Mayer, Bertrand, Dragendorf e Wagner. Uma alíquota de 2 mL de foi adicionada a 15 mL de água destilada e 0,5 mL de

ácido sulfúrico diluído a 10%. A mistura foi fervida por 2 minutos e após resfriamento foi submetida a filtração em papel de filtro. Um volume de 50 µL da amostra foi misturada a 50 µL de cada reagente em orifícios de uma placa para verificar a positividade da reação (formação de precipitado). Solução de cloridrato de pilocarpina (Pilocarpina® 2% - FRUMTOST S/A), um alcalóide natural, foi utilizada como controle positivo da reação.

### 3.4.5 Identificação de cumarinas

A análise qualitativa de cumarinas no chá de *S. pterota* foi realizada através de reação entre solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,5 N e chá (v/v). A solução foi exposta à luz ultravioleta 365 nm para observação de fluorescência azul ou verde, que indica resultado positivo para cumarinas [MATOS, 1997]. Como controle positivo foram utilizadas soluções de varfarina sódica a 0,5 mg/mL (Marevan® - Farmoquímica S/A) e do medicamento Venalot® (Takeda Pharma Ltda), composto por 15 mg de cumarina.

### 3.5 Experimentação animal

Ratos machos adultos da linhagem Wistar (n = 48), com peso médio de 150-180 gramas, idade de 6-7 semanas, foram adquiridos do Biotério Central da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A adaptação/quarentena foi realizada no Biotério da Disciplina de Fisiologia/Campus I da UFTM, onde os animais foram mantidos durante todo o período experimental, sob condições de temperatura padrão de 23°C, fotoperíodo de 12/12h, com reposição diária de ração e água. Este estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais (CEUA) da UFTM, sob pareceres nº32 e 34/2018/CEUA/UFTM (Anexo I).

Posteriormente, os animais foram subdivididos em grupos (n = 12), sendo 6 animais por caixa, e submetidos, por 10 dias, aos seguintes tratamentos, via oral, uma vez ao dia:

- Grupo 1 (Controle): ração comercial Nuvilab® CR1 e água (dose: 7 mL/kg corpóreo);
- Grupo 2 (Fitoterápico): ração comercial Nuvilab® CR1 e chá de *S. pterota* (dose: 7 mL/kg corpóreo);
- Grupo 3 (Varfarina sódica): ração comercial Nuvilab® CR1 e solução aquosa de varfarina a 0,005mg/mL (dose: 0,07 mg/kg corpóreo);
- Grupo 4 (AAS): ração comercial Nuvilab® CR1 e solução aquosa de AAS a 1mg/mL (dose: 1,5 mg/kg corpóreo).

As substâncias testes foram preparadas diariamente, sendo as soluções de varfarina sódica (Marevan® - Farmacoquímica S/A) e AAS (Aspirina Prevent® - Bayer Pharma AG) manipuladas a 0,05 mg/mL e 1mg/mL, respectivamente. O chá foi preparado conforme descrito no item 3.3.

Decorrido o período experimental, metade dos animais (n = 6/grupo) ficaram em jejum por 12h e foram anestesiados e eutanasiados com xilazina (10 mg/kg) e ketamina (90 mg/kg) para obtenção de soro e plasma visando a realização dos testes de coagulação e análise bioquímica. O sangue foi coletado após decaptação dos animais por guilhotina específica para roedores. A outra metade foi submetida aos experimentos de indução de trombose venosa e eutanásia ao final da experimentação.

### **3.5.1 Análise de parâmetros fisiológicos**

Durante o tratamento, os consumos hídrico e alimentar dos animais foram monitorados através da oferta diária de quantidades fixas de água (300 mL) e ração (500 g). Após 24 horas, o volume de água restante no frasco e de ração remanescente na caixa foram quantificados em proveta de vidro e balança digital, respectivamente. A ingesta sólida e líquida média/animal de cada grupo foi determinada pela diferença entre as quantidades de alimento ofertado e o restante verificado em cada caixa.

O controle ponderal dos animais em experimentação foi realizado, com a identificação prévia dos mesmos com caneta hidrográfica atóxica e pesados, a cada dois dias, em balança digital, contendo um recipiente plástico para acomodá-los.

Diariamente, no momento do tratamento, alguns sinais clínicos dos animais eram observados a fim de verificar sangramentos, mortalidade entre outras alterações perceptíveis.

### **3.5.2 Análise de parâmetros bioquímicos**

O sangue coletado dos animais foi submetido a centrifugação a 2000 rpm por 15 minutos para obtenção do soro. As dosagens séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL, uréia, ácido úrico, creatinina, transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP) foram realizadas através de técnicas colorimétricas utilizando-se *Kits* comerciais, da empresa Labtest Diagnóstica®. O colesterol-LDL foi quantificado através da equação Friedwald.

### **3.5.3 Avaliação da atividade antitrombótica *ex vivo***

O plasma foi obtido a partir da centrifugação do sangue total, coletado em tubos contendo citrato e centrifugado a 2000 rpm durante 15 minutos. A avaliação da atividade antitrombótica *ex vivo* foi realizada através de testes padronizados utilizando *kits* comerciais da empresa Bioclin® (TPPA e TP) e Labtest® Diagnóstica (FIB), conforme instruções contidas nas respectivas bulas.

#### **3.5.3.1 Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA)**

O plasma obtido de cada animal foi misturado com cálcio e fosfolipídio (“tromboplastina parcial”). Ao plasma (100 µL), foi adicionado 100 µL de tromboplastina e a mistura incubada por 3 minutos. A reação foi iniciada pela adição de 100 µL de cloreto de cálcio 0,25 M e o tempo de coagulação registrado em segundos.

#### **3.5.3.2 Tempo de Protrombina (TP)**

Tromboplastina (100 µL) foi incubada a 37°C por 5 minutos e misturado à 100 µL de plasma citratado obtido dos animais tratados. Após 5 minutos, foi adicionado o complexo protrombínico, disparando a cascata da coagulação e determinando o tempo de coagulação. Os resultados foram expressos em segundos.

#### **3.5.3.3 Ensaio de Fibrinogênio (FIB)**

Volume de 200 µL da amostra foi incubada em banho-maria por 6 minutos. Adicionou-se 0,1 mL do reagente (trombina), disparando o cronômetro para registrar o tempo de formação do coágulo. Os resultados foram calculados através de curva padrão de calibração (concentração de fibrinogênio mg/dL *versus* tempo de coagulação). Os resultados foram apresentados mg/dL.

#### **3.5.3.4 Tempo de Coagulação (TC)**

Um volume de 2,5 mL da amostra de sangue total foi armazenado em um microtubo *sem anticoagulante*, e incubada em banho-maria a 37°C. Procedeu-se a homogeneização por inversão da amostra, disparando o cronômetro para registro do tempo de formação do coágulo [BRASIL, 2016].

### **3.5.4 Modelo *in vivo* de trombose venosa**

A técnica utilizada para induzir a formação do trombo emprega uma combinação de hipercoagulabilidade e estase sanguínea [VOGEL *et al*, 1989]. Após 10 dias de tratamento, 6 animais de cada grupo foram anestesiados por via intramuscular com xilazina (10 mg/kg) e ketamina (90 mg/kg) e a cavidade abdominal aberta cirurgicamente para a exposição da veia cava inferior. Um segmento de 1,0 cm foi isolado, colocando suturas frouxas começando imediatamente numa região abaixo da veia renal direita e terminando logo abaixo da veia renal esquerda. A hipercoagulabilidade foi induzida por administração de tromboplastina cálcica (5,0 mg/kg) a 1,0 cm abaixo do segmento isolado, sendo fechado, primeiro a extremidade proximal e por último a extremidade distal. Após 20 minutos de estase, o trombo foi retirado, seco em estufa a 60°C por 1h e pesado.

### **3.6 Análise estatística**

Os dados obtidos foram analisados através do teste de Grubbs para identificação de *outliers*, e, posteriormente submetidos à análise estatística de variância (ANOVA), seguidos do teste de Tukey. O intervalo de confiança utilizado foi de 95% ( $\alpha=0,05$ ) [LAPPONI, 2013].

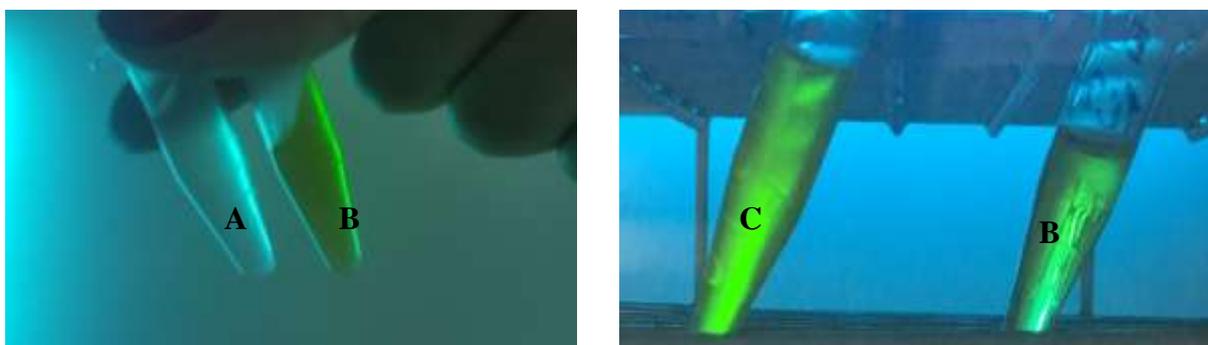
## ***4. RESULTADOS***

---

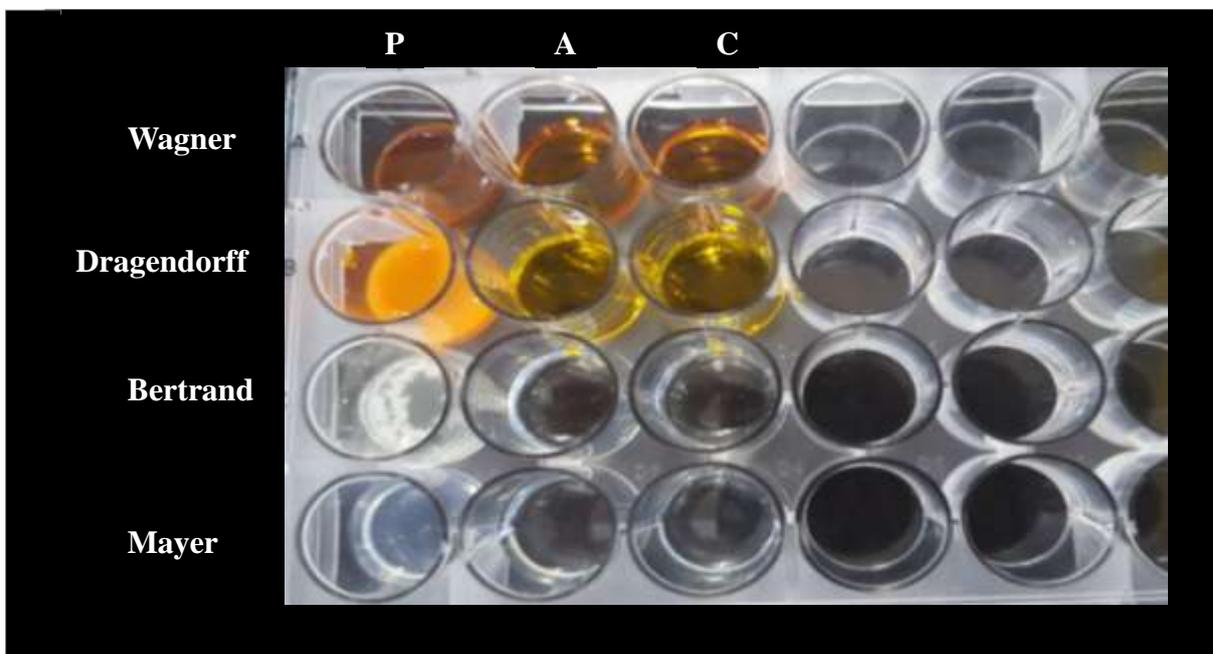
#### 4.1 Caracterização fitoquímica

A análise fitoquímica realizada no chá das folhas de *S. pterota* demonstrou que esta preparação é constituída por compostos fenólicos, taninos, flavanóides/flavonas e cumarinas. A quantificação dos constituintes propostos foi determinada através de curvas de calibração, empregando substâncias padrão para os diferentes grupos fitoquímicos, as quais são apresentadas no Anexo II. Os resultados demonstraram que o chá possui teor fenólico de  $0,072 \pm 0,003$  mg de EAG/mL de chá, taninos na quantidade de  $0,066 \pm 0,002$  mg de EAT/mL de chá e conteúdo de flavonóis/flavonas de cerca de  $0,007 \pm 0,003$  mg de EQ/mL de chá.

A Figura 3 apresenta o resultado da análise qualitativa do fitoterápico para detecção de cumarina, indicando positividade, devido a formação de coloração verde fluorescente na solução. Alcalóides não foram detectados no chá de *S. pterota*, quando analisados através da técnica que emprega os reagentes de Mayer, Bertrand, Dragendorf e Wagner. A Figura 4 apresenta o resultado desta avaliação, onde se verifica a formação de precipitado na presença de pilocarpina (alcalóide padrão) e ausência de precipitação no orifício contendo fitoterápico.



**Figura 3** - Resultado da análise do teste para detecção de cumarina na presença de luz ultravioleta. A - Marevan® (varfarina sódica); B - Chá de *S. pterota*; C - Venalot® (cumarina).



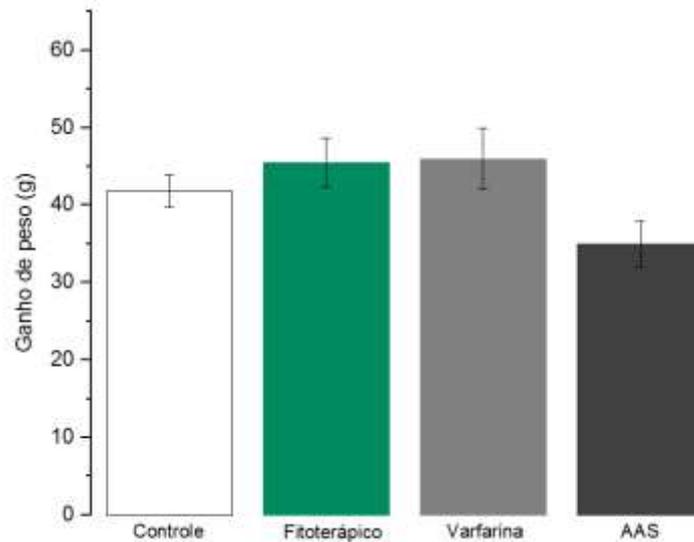
**Figura 4** - Resultado da determinação qualitativa da presença de alcalóides em diferentes sistemas. P - Solução de pilocarpina (controle positivo); A - Água (controle negativo); C - Chá de *S. pterota*.

## 4.2 Experimentação animal

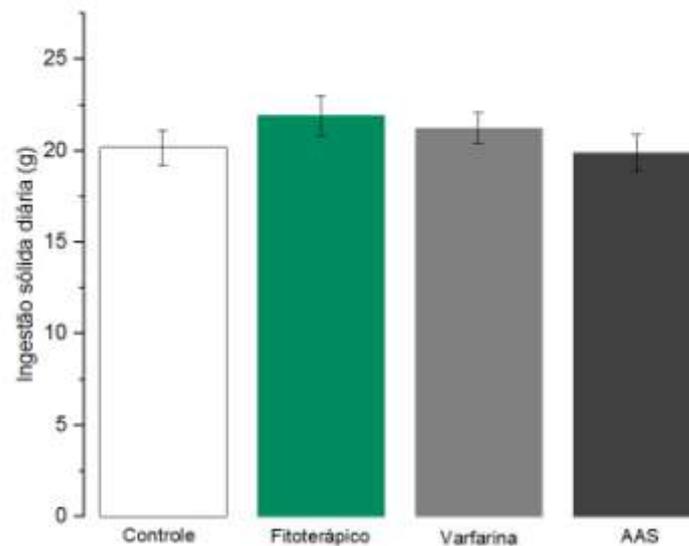
### 4.2.1 Análise dos parâmetros fisiológicos

A Figura 5 apresenta o ganho ponderal médio dos animais submetidos ao tratamento com diferentes substâncias e chá de *S. pterota*, demonstrando não haver diferença significativa entre os grupos avaliados e o grupo controle. Os dados de ingestão alimentar sólida e hídrica são apresentados na Figura 6 e 7, respectivamente, e demonstraram que animais tratados com o fitoterápico ingeriram quantidade de água, estatisticamente, superior em relação ao grupo controle. Neste contexto, foi possível verificar maior umidade na maravalha, com odor característico de urina, na caixa que acondicionavam os animais que receberam o fitoterápico, sugerindo um aumento na diurese, apesar da mesma não ter sido quantificada neste estudo. A Figura 8 apresenta a diferença no aspecto da maravalha que acomodavam animais que receberam água e fitoterápico.

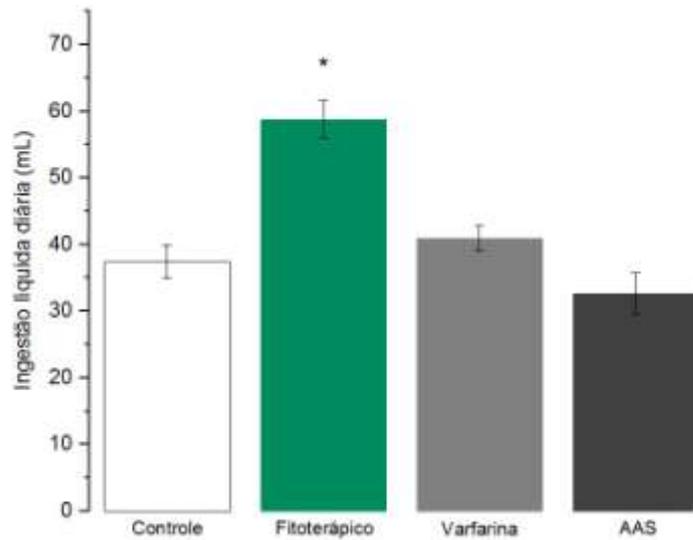
Durante a experimentação, não foram observados sinais de sangramento nos animais, bem como não foi verificada mortalidade até o momento da eutanásia.



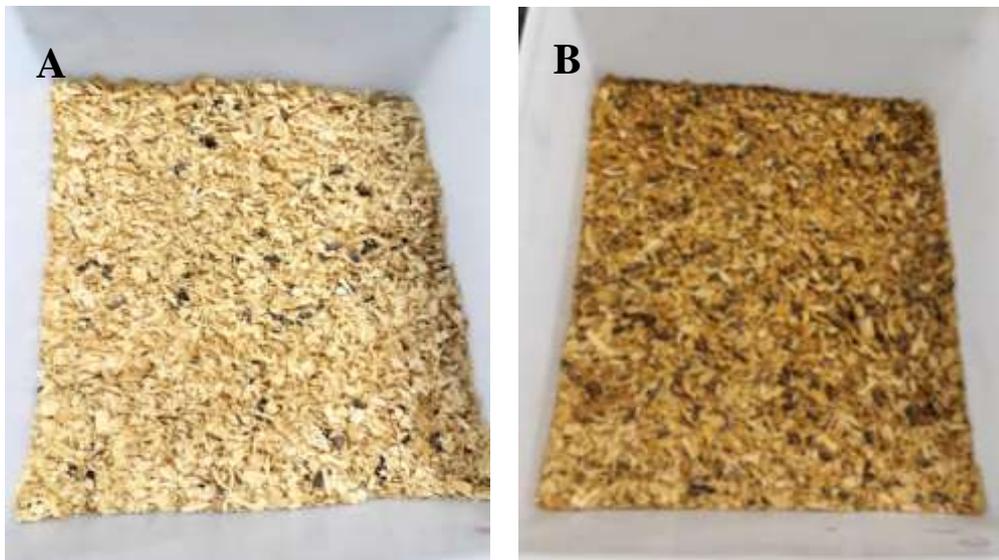
**Figura 5** - Efeito de diferentes tratamentos sobre o ganho ponderal de ratos Wistar (n = 12/grupo). Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão.



**Figura 6** - Ingestão sólida diária de ratos Wistar submetidos a diferentes tratamentos. Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão. (n = 12/grupo).



**Figura 7** - Ingestão hídrica diária de ratos Wistar submetidos a diferentes tratamentos. Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão. \* $p < 0,05$  em relação ao controle. (n = 12/grupo).



**Figura 8** - Aspecto da maravalha que acomodavam animais submetidos a diferentes tratamentos. A = Grupo Controle; B = Grupo Fitoterápico.

#### 4.2.2 Análise dos parâmetros bioquímicos

Os dados da avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos, incluindo glicose, triglicérides, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-LDL, transaminases, uréia, ácido úrico e creatinina estão apresentados na Tabela 1. Os resultados não demonstraram diferenças significativas nos parâmetros hepáticos (TGP e TGO) e renais (ureia, ácido úrico e creatinina) entre os animais que receberam o fitoterápico e o grupo controle. Aumento significativo nos níveis de uréia foi verificado no grupo tratado com varfarina em relação ao controle.

Em relação às taxas de colesterol total e fração de colesterol-LDL, animais submetidos ao tratamento com o fitoterápico e varfarina apresentaram níveis, significativamente, inferiores quando comparados ao controle, demonstrando que tais soluções, nas doses administradas, melhoraram o perfil lipídico dos animais.

**Tabela 1** - Valores dos parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos submetidos a diferentes tratamentos. Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão. ( $n \geq 4$ /grupo).

|                                 | Controle          | Fitoterápico       | Varfarina          | AAS                |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Glicose (mg/dL)</b>          | 101,34 $\pm$ 7,36 | 115,57 $\pm$ 10,65 | 108,00 $\pm$ 10,52 | 107,87 $\pm$ 10,16 |
| <b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>   | 69,89 $\pm$ 3,63  | 63,66 $\pm$ 4,72   | 77,62 $\pm$ 3,58   | 70,58 $\pm$ 1,16   |
| <b>Colesterol Total (mg/dL)</b> | 141,77 $\pm$ 4,94 | 72,57 $\pm$ 3,73*  | 81,22 $\pm$ 6,21*  | 123,03 $\pm$ 10,23 |
| <b>Colesterol HDL (mg/dL)</b>   | 43,76 $\pm$ 4,27  | 52,71 $\pm$ 2,82   | 52,97 $\pm$ 3,02   | 41,03 $\pm$ 5,79   |
| <b>Colesterol LDL (mg/dL)</b>   | 86,34 $\pm$ 3,88  | 7,42 $\pm$ 5,49*   | 16,36 $\pm$ 2,44*  | 67,89 $\pm$ 5,08*  |
| <b>Uréia (mg/dL)</b>            | 75,75 $\pm$ 3,28  | 74,15 $\pm$ 2,02   | 87,07 $\pm$ 3,30   | 84,00 $\pm$ 2,30   |
| <b>Ácido úrico (mg/dL)</b>      | 3,13 $\pm$ 0,57   | 3,62 $\pm$ 0,80    | 3,14 $\pm$ 0,62    | 3,25 $\pm$ 0,29    |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>       | 0,45 $\pm$ 0,12   | 0,56 $\pm$ 0,10    | 0,51 $\pm$ 0,09    | 0,69 $\pm$ 0,10    |
| <b>TGO (U/mL)</b>               | 130,22 $\pm$ 2,90 | 137,44 $\pm$ 7,08  | 118,00 $\pm$ 7,24  | 119,00 $\pm$ 4,76  |
| <b>TGP (U/mL)</b>               | 41,88 $\pm$ 2,84  | 49,19 $\pm$ 5,26   | 42,96 $\pm$ 4,30   | 53,71 $\pm$ 5,59   |

\* $p < 0,05$  em relação ao controle.

### 4.2.3 Atividade antitrombótica

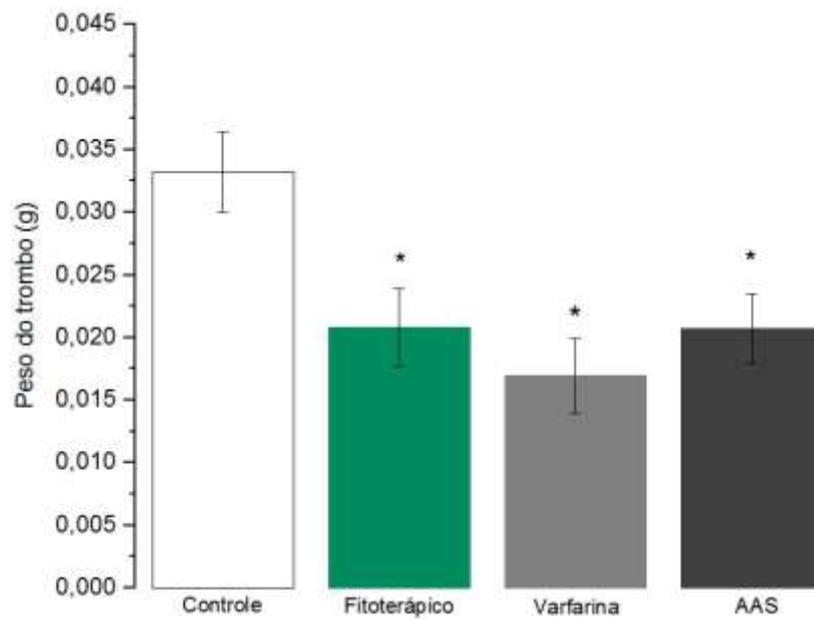
Os resultados dos ensaios de TTPA, TP, fibrinogênio e tempo de coagulação dos animais tratados com o chá de *S. pterota* e demais substâncias testes estão descritos na Tabela 2. Não foram verificadas diferenças significativas entre o grupo controle e os que receberam outros tratamentos na análise do TPPA e TP, no entanto, os níveis de fibrinogênio mostraram-se, estatisticamente, aumentados em animais tratados com o fitoterápico e AAS, quando comparados aos animais que receberam água. Os dados demonstraram que o fitoterápico e os fármacos testados provocaram retardo no tempo de coagulação, sendo este resultado, significativamente, distinto do observado no grupo controle.

Os efeitos do fitoterápico, da varfarina e do AAS na formação do trombo induzido por hipercoagulabilidade e estase estão representados na Figura 9. Os resultados mostraram que o chá de *S. pterota* e os antitrombóticos testados provocaram redução significativa do trombo induzido, quando comparado ao grupo controle. O fitoterápico foi capaz de diminuir a formação do trombo em cerca de 37,35%.

**Tabela 2** - Efeito de diferentes tratamentos sobre o TPPA (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada), TP (Tempo de Tromboplastina), FIB (Ensaio de Fibrinogênio) e TC (Tempo de coagulação) de ratos Wistar. Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão. (n  $\geq$  5/grupo).

|                     | TTPA (s)         | TP (s)           | FIB (mg/dL)        | TC (s)            |
|---------------------|------------------|------------------|--------------------|-------------------|
| <b>Controle</b>     | 25,20 $\pm$ 2,23 | 21,73 $\pm$ 1,09 | 308,87 $\pm$ 3,83  | 30,4 $\pm$ 0,67   |
| <b>Fitoterápico</b> | 29,15 $\pm$ 2,71 | 22,62 $\pm$ 0,86 | 329,05 $\pm$ 6,47* | 35,83 $\pm$ 0,87* |
| <b>Varfarina</b>    | 28,20 $\pm$ 2,06 | 21,00 $\pm$ 0,70 | 315,35 $\pm$ 2,25  | 48,6 $\pm$ 1,92*  |
| <b>AAS</b>          | 25,69 $\pm$ 0,69 | 22,08 $\pm$ 0,47 | 325,77 $\pm$ 5,74  | 79,8 $\pm$ 2,92*  |

\*p<0,05 em relação ao controle.



**Figura 9** - Efeito de diferentes tratamentos sobre o peso do trombo formado em ratos Wistar. Resultados apresentados como média  $\pm$  erro padrão. \* $p < 0,05$  em relação ao controle. ( $n \geq 5$ /grupo).

---

---

***5. DISCUSSÃO***

Apesar da *S. pterota* ser utilizada para o tratamento de tromboembolismo, escassas são as informações químico-biológicas sobre esta espécie vegetal. Nos últimos anos, a caracterização química de preparações fitoterápicas vem sendo amplamente exigida no desenvolvimento de novos fitoterápicos, a fim de garantir sua qualidade e assegurar a eficácia clínica, além de correlacioná-la ao conteúdo de princípios ativos presentes no fitomedicamento.

Na literatura científica não há estudos que descrevam o conteúdo fitoquímico do chá de folhas *S. pterota*. Apenas MOURA *et al* [2006] relataram a presença dos esteróis estigmasterol, campesterol, beta-sitosterol, sitosterol e 3-O-beta-glicopiranosil em extrato etanólico obtido da parte aérea da espécie. Estudos químicos de espécies da família *Cyperaceae* revelaram a existência de diferentes tipos de flavonoides, incluindo flavonas, flavonóis e proantocianidinas em plantas do gênero *Scleria* [HARBORNE *et al*, 1985; MAIA *et al*, 2005].

Os resultados deste estudo mostraram que o chá de folhas de *S. pterota* possui substâncias fenólicas, entre as quais foram identificados taninos, flavonóides e cumarinas. Compostos fenólicos são caracterizados por possuírem, pelo menos, um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila [SIMÕES *et al*, 2017]. Estas substâncias podem ser extraídas pelos métodos de infusão, decocção ou maceração em água ou solventes orgânicos [KÄHKÖNEN *et al*, 1999]. Autores relatam que os chás são uma das melhores fontes extrativas desses compostos [LIMA *et al*, 2004]. A estes compostos são atribuídas propriedades biológicas importantes como quelar metais e sequestrar radicais livres, auxiliando na manutenção da saúde celular [ALU'DATT *et al*, 2017].

Atualmente, é amplamente conhecida a propriedade antioxidante e participação de substâncias fenólicas na redução dos níveis séricos de colesterol, atuando como cardioprotetores [SIMÕES *et al*, 2017; CHENG *et al*, 2017]. Neste aspecto, a redução de colesterol total e fração LDL, verificada nos animais que receberam o fitoterápico, pode estar relacionada a presença destes constituintes no chá. O efeito hipocolesterolêmico também foi observado no grupo tratado com varfarina, resultados que corroboram com os achados de MAKKI [2018], que em estudo realizado em pacientes com doença arterial coronariana, verificou redução, significativa, nos níveis de colesterol total e colesterol-LDL de pacientes

em tratamento com varfarina. Diante dos resultados na redução dos níveis de colesterol verificados neste estudo e, visto a varfarina ser um congênere sintético do dicumarol (bis-hidroxycumarina) [BRUNTON, 2015], sugere-se que a atividade hipolipemiante do chá possa ser atribuída a presença de cumarinas. Alguns estudos descrevem o potencial hipolipidêmico desse grupo fitoquímico e seus derivados [KOTTAI, 2016; TEJADA *et al*, 2017].

Outras substâncias de origem natural com importante papel na redução dos níveis de colesterol sanguíneo e do risco de doenças cardiovasculares são os fitoesteróis [LOTTENBERG *et al*, 2002; GHAEDI *et al*, 2019]. O  $\beta$ -sitosterol, campesterol e estigmasterol pertencem a subclasse dos esteróis 4-desmetil, a qual é atribuída o efeito hipocolesterolêmico [FANI, 2016; CABRAL; KLEIN, 2017]. Alguns destes fitoesteróis (campesterol e estigmasterol) foram identificados por MOURA *et al* [2006] em extrato obtido das partes aéreas de *S. pterota*, o que pode contribuir para a ação hipolipemiante induzida pelo chá.

Os resultados da análise bioquímica sérica de animais tratados com o fitoterápico, incluindo glicose, triglicérides, colesterol-HDL, perfil hepático (TGP e TGO) e renal (uréia, ácido úrico e creatinina) não demonstraram alterações significativas nos parâmetros analisados. A avaliação bioquímica sanguínea associada a investigação de outros parâmetros fisiológicos, auxilia na obtenção de informações sobre possíveis efeitos tóxicos produzidos por princípios ativos e fitoterápicos. Segundo as disposições da ANVISA, em testes de toxicidade, a avaliação da mortalidade, sinais clínicos, variações no peso corporal e no consumo alimentar, patologia clínica (hematologia e bioquímica) e investigações anátomo-histopatológicas, são necessárias para garantir a segurança farmacológica de fitoterápicos [ANVISA, 2013].

Os resultados do monitoramento ponderal de animais submetidos aos tratamentos com o fitoterápico, varfarina e AAS demonstraram não haver diferença significativa quando comparados ao grupo controle. Em relação à ingestão de alimentos sólidos também não foram verificadas disparidades, entretanto, foi constatado que animais tratados com o fitoterápico ingeriram quantidade de água, estatisticamente, superior em relação ao grupo controle. Tal resultado pode estar associado aos sinais clínicos observados em relação à diurese, que apesar de não ter sido quantificada neste estudo, foi possível verificar maior umidade da maravalha e odor mais intenso de urina nas caixas que acondicionavam os animais que receberam o fitoterápico. Neste sentido, o uso popular e tradicional de plantas do gênero *Scleria* como poderosos diuréticos e diafóreticos [CORRÊA, 1984; GROSVENOR, 1995] parece estar

correto e podem justificar o aumento na ingestão hídrica verificado pelos animais que foram tratados com o fitoterápico.

Em determinadas situações clínicas, diuréticos são empregados no tratamento do tromboembolismo pulmonar visando o controle de hipertensão pulmonar [GISMONDI, 2018; PETRIS *et al*, 2019]. Apesar de autores relatarem o uso de plantas do gênero *Scleria* como diuréticos, não há dados na literatura científica quanto ao seu uso etnofarmacológico para o tratamento de doenças tromboembólicas. O emprego terapêutico da navalha de mico para esta finalidade, por uma comunidade na região de Araxá (MG), instigou a avaliação das potencialidades farmacológicas desta espécie sobre parâmetros envolvidos na coagulação sanguínea.

Os resultados deste estudo demonstraram que o fitoterápico interferiu no tempo de coagulação sanguínea, apresentando-se aumentado, significando um retardo na coagulação sanguínea. Este efeito também foi verificado em animais tratados com varfarina e AAS. O tempo de coagulação é afetado principalmente por alterações na via intrínseca, podendo apresentar-se elevado em situações de deficiência de fibrinogênio, hemofilias, hepatopatia severa, deficiência de vitamina K, trombocitopenia, uremia e na presença de anticoagulantes circulantes. A heparinoterapia promove aumento do tempo de coagulação devido à inibição da conversão de fibrinogênio em fibrina, um processo que ocorre sob ação da trombina [SBC, 2013]. DUBOSCQ *et al* [2018] observaram aumento, não significativo, de fibrinogênio quando do uso de diferentes fármacos antitrombóticos, incluindo heparina, inibidor de vitamina K e dabigatrana.

Aumento significativo nas quantidades plasmáticas de fibrinogênio foi evidenciado em animais que receberam o fitoterápico e AAS, entretanto não foram observadas diferenças significantes para o TPPA e TP, em relação ao grupo controle. Alguns pesquisadores verificaram que o uso de dabigatrana, anticoagulante inibidor de trombina, provocou aumento nos níveis de fibrinogênio [ATSUSHI *et al*, 2017], o qual pode ser decorrente da inibição da transformação do fibrinogênio em fibrina, efeito que dificulta formação do trombo.

Segundo o DORLAND [1999], um agente antitrombótico é definido como aquele que age interferindo ou impedindo a formação do trombo. Neste sentido, os resultados deste trabalho demonstram que o chá de folhas de *S. pterota* possui ação antitrombótica, visto que foi verificada redução significativa, cerca de 37,35%, no peso do trombo formado em relação ao grupo controle.

Diante do efeito antitrombótico e do aumento do tempo de coagulação induzido pelo chá, esperava-se que o TTPA e/ou TP também estivessem alterados, uma vez que tais parâmetros estão relacionados a deficiências ou anormalidades na via intrínseca e extrínseca de coagulação, respectivamente. No entanto, estes efeitos não foram verificados. MENDES-SILVA *et al* [2003], em análise da atividade antitrombótica da glicirrizina, verificaram alteração no peso do trombo, mas somente em altas doses do fitofármaco observaram aumento de TTPA, mostrando que estes efeitos podem ser dose e tempo dependentes. ZONG *et al* [2017] também encontraram uma relação dose-dependente na ação inibitória de fenóis sobre parâmetros envolvidos na coagulação.

O efeito antitrombótico do chá de *S. pterota* pode estar relacionado a presença de compostos fenólicos, tais como taninos, flavonóides e cumarinas. Neste aspecto, taninos poderiam estar interagindo com mediadores envolvidos no processo de coagulação, pois são muito reativos e quando oxidados, formam ligações covalentes com alguns grupos funcionais, alterando a funcionalidade de proteínas e interferindo com cofatores enzimáticos e vitaminas [BENEVIDES *et al*, 2011; MONTEIRO *et al*, 2005]. Em estudos de análise química estrutural (*docking*), BIJACK *et al* [2014] descrevem a possibilidade de inibição do fator Xa da cascata de coagulação devido as características moleculares que apresentam. AKIBA *et al* [1998] verificaram que o extrato de *Ginkgo biloba* tem efeito sobre a coagulação sanguínea por inibir a agregação plaquetária induzida pela adenosina difosfato (ADP) e antagonizar o efeito do fator de agregação plaquetária (FAP).

Atualmente, a varfarina, um antagonista da vitamina K, é um dos anticoagulantes, da classe dos cumarínicos, mais utilizados para tratamento do tromboembolismo a longo prazo, o qual atua na inibição de  $\gamma$ -carboxilação de proteínas, pré-fatores de coagulação, dependentes de vitamina K [MAFFEI *et al*, 2008]. Cumarinas e taninos presentes na espécie *Aesculus hippocastanum* (castanha-da-índia) apresentam propriedades farmacológicas que auxiliam na prevenção de eventos tromboembólicos, visto que são tônicos da circulação venosa, diminuem o retorno venoso e edema, além de apresentarem efeito vasodilatador suave [CARMONA *et al*, 2016].

Pelo exposto, o chá das folhas de *Scleria pterota* possui efeito antitrombótico, indicando que o uso empírico desta espécie está correto. Sugere-se que a presença de fenóis totais, incluindo taninos, flavonóides e cumarinas, na preparação fitoterápica, tenham participação no efeito verificado. A administração do fitoterápico parece ser segura, visto que não foram verificados sinais clínicos de toxicidade e mortalidade. Entretanto, devem ser

realizados testes para a avaliação histopatológica de fígados e rins, além da necessidade de investigação dos níveis aumentados de fibrinogênio verificados, visto ser considerado uma proteína de fase aguda.

Além de promover a aplicação correta e segura do chá de folhas de *S. pterota*, espera-se que este estudo possa subsidiar o desenvolvimento de terapias mais acessíveis a portadores de doenças tromboembólicas e de outras disfunções relacionadas ao sistema cardiovascular.

## ***6. CONCLUSÃO***

---

---

Através da análise dos resultados deste estudo foi possível concluir que o chá de folhas de *S. pterota* possui compostos fenólicos, dentre eles, taninos, flavonóides e cumarinas na sua constituição fitoquímica.

A avaliação dos parâmetros fisiológicos, bioquímicos e envolvidos na coagulação sanguínea de ratos Wistar submetidos ao tratamento com a preparação fitoterápica, na dose avaliada, por 10 dias permitiu concluir que o chá:

- a) induz o aumento na ingestão de água e há indícios de maior diurese em relação aos animais que receberam água;
- b) apresenta ação hipolipemiante devido à redução dos níveis séricos de colesterol total e frações de colesterol-LDL;
- c) interfere no processo de coagulação sanguínea, retardando o tempo de coagulação;
- d) tem efeito antitrombótico, visto a redução significativa no peso de trombos formados;
- e) não induz mortalidade dos animais, sugerindo ser seguro, além da ausência de alterações bioquímicas, hepáticas e renais.

Apesar de ser considerada uma “erva daninha” por parte de agricultores, a espécie *S. pterota* revela-se como um promissor fitoterápico, principalmente no que tange ao tratamento de doenças cardiovasculares.

## ***REFERÊNCIAS***

---

---

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

AFONSO, A.; MARQUES, G.; GONÇALVES, A.; BARROSO, P.; GONZALEZ, A. A terapêutica antitrombótica: atual e em desenvolvimento. **Angiol Cir Vasc**, Portugal, v.12, n.3, p.170-179, 2016.

AKIBA, S.; KAWAUCHI, T.; OKA, T.; HASHIZUME, T.; SATO, T. Inhibitory effect of the leaf extract of *Ginkgo biloba* L. on oxidative stress induced platelet aggregation. **Biochem Mol Biol Int**. Japão, v.46, n.6, p.1243-1248, 1998.

ALU'DATT, M.H.; RABABAH, T.; ALHAMAD, M.N.; AL-MAHASNEH, M.A.; ALMAJWAL, A.; GAMMO, H S.; EREIFEJ, K.; JOHARGY, A.; ALLI, I. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. **Food Chem**, Canada, v.218, p.99-106, 2016.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Gerência de avaliação de segurança e eficácia**. Brasília/DF, 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em fev/2018.

ATSUSHI, Y.; ISHIURA, R.; NARUSHIMA, M.; YATOMI, Y. Successful treatment with dabigatran for consumptive coagulopathy associated with extensive vascular malformations. **Blood Coagul Fibrinolysis**. Japan, v.28, n.8, p.670-674, 2017.

BALESTRA, D.; BRANCHINI, A. Molecular mechanisms and determinants of innovative correction approaches in coagulation factor deficiencies. **Int J Mol Sci**, v.20, n.3036, p.1-37, 2019.

BARUZZI, A.C.A.; STEFANINI, E.; MANZO, G. Fibrinolíticos: indicações e tratamento das complicações hemorrágicas. **Rev Soc Cardiol**. São Paulo/SP, v.28, n. 4, p.421-427, 2018.

BECATTINI, C.; AGNELLI, G. Treatment of venous thromboembolism with new anticoagulant agents. **JACC**, v.67, n.16, p.1941-1955, 2016.

BENEVIDES, C.M.J.; SOUZA, M.U.; SOUZA, R.DB.; LOPES, M.V. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança alimentar e nutricional**, Campinas/SP, v.18, n.2, p.67-79, 2011.

BIJAK, M.; PONCZEK, M.B.; NOWAK, P. Polyphenol compounds belonging to flavonoids inhibit activity of coagulation factor X. **Int J Biol Macromol**. Polônia, v.65, p.129-135, 2014.

BIOCLIN® – Soluções para diagnóstico em saúde. **Manual de Instruções para uso dos reagentes**. Belo Horizonte/MG. Disponível em <https://www.bioclin.com.br/catalogos/>. Acesso em jan/2019.

---

<sup>1</sup> De acordo com Manual para apresentação de trabalhos acadêmicos baseado nas normas de documentação da ABNT, elaborado pela Biblioteca Central da UFTM, 3ª edição, 2019.

BONOLI, M.; BENDINI, A.; CERRETANI, L., LERCKER, G.; TOSCHI, T.G. Qualitative and semiquantitative analysis of phenolic compounds in extra virgin olive oils as a function of the ripening degree of olive fruits by different analytical techniques. **J Agric Food Chem.** Finlândia, v.52, n.23, p.7026-7032, 2004.

BOUÇAS, R.I.; MIRANDA, T.A.; BOUÇAS, T.R.J.; NADER, H.B. Novas drogas antitrombóticas: comparação das atividades anticoagulante, antitrombótica e hemorrágica. **Science**, v.3, n.2, p.104-108, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual de diagnóstico laboratorial das coagulopatias hereditárias e plaquetopatias.** Brasília/DF, 2016, 142p.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S; PARKER, K.L. **Goodman E Gilman: Manual de Farmacologia e Terapêutica.** 11 ed. Porto Alegre/RS: Mcgraw-Hill AMGH, 2015, 1120p.

CABRAL, C.E.; KLEIN, M.R.S.T. Fitosteróis no tratamento da hipercolesterolemia e prevenção de doenças cardiovasculares. **Arq Bras Cardiol.** São Paulo, v. 109, 2017.

CARMONA, F. **Curso de Fitoterapia Aplicada – Sistema circulatório.** Ribeirão Preto, v.3, p.20-23, 2016. Apostila elabora pelo professor Fábio Carmona – Farmácia da Natureza/Terra de Ismael.

CASTRO, H.C.; FERREIRA, B.L.A.; NAGASHIMA, T.; SCHUELER, A.; RUEFF, C.; CAMISASCA, D.; MOREIRA, G.; SCOVINO, G.; BORGES, L.; FILGUEIRA, M.; PASCHOAL, P.; BERNARDO, V.; BOURGUINHON, S.; RODRIGUES, C.R.; SANTOS, D.O. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. **J Bras Patol Med Lab**, Rio de Janeiro, v.42, n.5, p.321-332, 2006.

CHANG, C. C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **J Food Drugs Anal**, China, v.10, n.3, p.178-182, 2002.

CHENG, Y.C.; SHEEN, J.M.; HU, W.L.; HUNG, Y.C. Polyphenols and Oxidative Stress in Atherosclerosis-Related Ischemic Heart Disease and Stroke. **Oxide Med Cell Longev**, China, v.2017, p.1-16, 2017.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** Rio de Janeiro: Ministerio da Agricultura, v.6, 1984, 780p.

COSTA, A.F. **Farmacognosia.** 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002. 992p.

DORLAND, W.A.N. **Dicionário médico ilustrado Dorland.** Tradutor: Dr. Nelson Gomes de Oliveira. 28 ed, São Paulo/SP: Manole, 1999, 2217p.

DUBOSCQ, C.; MARTINUZZO, M.E.; CERESETTO, J.; LOPES, M.; BARRERA, L. OYHAMBURU, J.; STEMMELIN, G. The fibrinogen prothrombin time-derived method is not useful in patients anticoagulated with low molecular weight heparins or rivaroxaban. **J Thromb Haemost.** Argentina, v.16, p.1626-1631, 2018.

FANI, M. O uso de fitoesteróis como agentes terapêuticos. **Aditivos & Ingredientes**. Brasil, n.134, p.54-60, 2016.

FERNALD, M.L. **Gray's Manual of Botany**. 8 ed., EUA: American Book Company, 1970, 1632p.

FERNANDES, C.J.C.S.; JUNIOR, J.L.A.; GAVILANES F.; PRADA, L.F.; MORINAGA, L.K.; SOUZA, R. Os novos anticoagulantes no tratamento do tromboembolismo venoso. **J Bras Pneumol**, São Paulo/SP, v.42, n.2, p.146-154, 2016.

FERNANDES, V.C. **Propriedades antiofídicas do extrato aquoso de *Scleria pterota***. Ribeirão Preto, 2004. 36p. Monografia (Especialização) apresentada à Universidade Federal de Ribeirão Preto.

FERREIRA, C.N.; SOUSA, M.O.; DUSSE, L.M.S.; CARVALHO, M.G. A cell-based model of coagulation and its implications. **Rev Bras Hematol Hemoter**. São Paulo, v.32, n.5, p.416-421, 2010.

GHAEDI, E.; KORD, V.H.; MOHAMMADI, H.; ASKARPOUR, M.; MIRAGHAJANI, M. Phytosterol supplementation could improve atherogenic and anti-atherogenic apolipoproteins: a sistematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. **J Am Coll Nutr**, v.38, p.1-11, 2019.

GISMONDI, R. Tromboembolismo pulmonar crônico: novidades no diagnóstico e tratamento. **PebMed**, atualizado em 23/07/2018. Disponível em: <https://pebmed.com.br/tromboembolismo-pulmonar-cronico-novidades-no-diagnostico-e-tratamento/>. Acesso em ago/2019.

GROSVENOR, P.W.; GOTHARD, P.K.; McWILLIAM, N.C.; SUPRIONO, A.; GRAY, D. Medical plantas from Riau Province, Sumatra, Indonésia. Part 1: Uses. **J. Ethnopharmacol.**, Londres, n.45, p.75-79, 1995.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11 ed.. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2017, 1114p.

HARBONE, J.B; WILLIAMS, C.A.; WILSON, K.L. Flavonoids in leaves and inflorescens of Australian Cyperaceae. **Phytochemistry**. Austrália, v.24, n.4, p.751-766, 1985.

HENRY, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais**. 21 ed, Barueri/SP: Manole, 2013, 1664p.

KAHKONEN, M.P.; HOPIA, A.I.; VUORELA, H.J.; RAUHA, J.P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T.S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **J Agric Food Chem**. Finlândia, v.47, n.10, p. 3954-3962, 1999.

KEARON, C.; AKL, E.A.; ORNELAS, J.; BLAIVAS, A.; JIMENES, D.; BOUNAMEAUX, H.. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: CHEST Guideline and Expert Panel Report. **CHEST**, v.149, n.2, p.315-352, 2016.

KONTOGIORGIS, C.; NICOLOTTI, O; MANGIATORDI, G.F.; TOGNOLINI, M.; KARALAKI, F.; GIORGIO, C.; PATSILINAKOS, A.; CAROTTI, A.; HADJIPAVLOULITINA, D.; BAROCELLI, E. Studies on the antiplatelet and antithrombotic profile of anti-inflammatory coumarin derivatives. **J Enzyme Inhib Med Chem**. Itália, v.30, n.6, p.925-933, 2015.

KOTTAI, M.A. Evaluation of hypolipedemic activity of coumarin derivatives isolated from *Ionidium suffruticosum* in rats fed with high fat diet. **Int J Adv Sci Engineer Technol**. Índia, v.4, n.4, p.177-181, 2016.

LABTEST® Diagnóstica S.A. Indústria de diagnóstico *in vitro*. **Manual de Instruções para uso dos reagentes**. Lagoa Santa/MG. Disponível em <http://labtest.com.br/reagentes/>. Acesso em jan/2019.

LAPPONI, J.C. **Estatística usando Excel**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 496p.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO E.A.; LIMA, D.E.S. Nota Prévia: Teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Braz J Food Techn**. Brasil, v.7, n.2, p.187-90, 2004.

LORENZI, Harri. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 4 ed, Nossa Odessa/SP: Instituto Plantarum, 2008, 674p.

LOTTENBERG, A.M.P.; NUNES, V.S.; NAKANDAKARE, M.N.; BERNIK, M.; SANTOS, J.E.; QUINTÃO, E.C.R. Fitoesteróis na redução de lípidos plasmáticos em hipercolesterolêmicos. **Arq Bras Cardiol**. Brasil, v.79, p.139-142, 2002.

MAFFEI, F.H.A.; LASTÓRIA, S.; YOSHIDA, W.B.; ROLLO, H.A.; GIANNINI, M.; MOURA, R. **Doenças vasculares periféricas**. 5 ed, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2015.

MAIA, J.G.S.; ANDRADE, H.; SILVA, M.H.L.; ROSA, N.A. Essential oil composition of *Scleria hirtella* Swartz (Cyperaceae). **Flavour Frag. J**. Brasil, v.20, n.5, p.472-473, 2005.

MAKKI, N.F. Effect of warfarin on cholesterol, LDL, HDL and TG levels in coronary artery patients. **J Pharm Sci Res**, v.10, n.2, p.257-259, 2018.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2 ed, Fortaleza/CE: UFC, 1997, 141p.

MENDES-SILVA, W.; ASSAFIM, M.; RUTA, B.; MONTEIRO, R.Q.; GUIMARÃES, J.A.; ZINGALI, R.B. Antithrombotic effect of Glycyrrhizin, a plant-derived thrombin inhibitor. **Thromb Res**. Rio de Janeiro/RJ e Porto Alegre/RS, v.112, p.93-98, 2003.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L.; AMORIM, E.L.C.A. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quím Nova**. Recife/PE, v.28, n.5, p.892-896, 2005.

MOURA, V.M.; SANTIN, S.M.O.; FILHO, B.P.D. Constituintes químicos da erva daninha *Scleria pterota*. **Revista Uningá**. Maringá/PR, n.7, p.127-136, 2006

OYARZÚN, C.P.; HELLER, P.G. Platelets as Mediators of thromboinflammation in chronic myeloproliferative neoplasms. **Front Immunol.** Argentina, v.10, n.1373, p.1-9, 2019.

PARACELSO. **As plantas mágicas botânica oculta.** Tradução de Atílio Cancian. São Paulo/SP: Hemus Livraria e Editora Ltda, 1976.

PESSOTI, C.F.X.; JATENE, M.B.; JATENE, I.B.; OLIVEIRA, P.M.; SUCCI, F.M.P.; MOREIRA, V.M.; LOPES, R.W.; PEDRA, S.R.F.F. Estudo comparativo entre o uso do antiagregante plaquetário e do anticoagulante oral na profilaxia de trombose em pacientes submetidos à operação cavopulmonar total com tubo extracardíaco: análise ecocardiográfica, angiotomográfica, cintilográfica, laboratorial e clínica. **Rev Bras Cir Cardiovasc.** São Paulo/SP, v.29, n.4, p.595-605, 2014.

PETRIS, A.O.; KONSTANTINIDES, S.; TINT, D.; CIMPOESU, D.; POP., C. Therapeutic advances in emergency cardiology: acute pulmonary embolism. **Am J Ther.** Romênia/Alemanha/Grécia, v.26, n.2, p.248-256, 2019.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Farmacologia Rang & Dale.** Tradução de Tatiana Ferreira Robaina. 7 ed. Rio de Janeiro/RJ: Elsevier, 2011. 778 p.

SBACV – Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vasculiar. **Trombose Venosa Profunda e Embolia Pulmonar.** São Paulo/SP. Disponível em <http://www.sbacv.com.br/>. Acesso em abril/2019.

SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Diretrizes brasileiras de antiagregantes plaquetários e anticoagulantes em cardiologia.** Rio de Janeiro/RJ, v.101, n.3, 2013.

SEIGLER, D.S., SEILHEIMER, J.K.; HUANG, H.F. Tannins from four common *Acacia* species of Texas and Northeastern Mexico. **Economic Botany**, v.40, p.220-232. 1986.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento.** São Paulo/SP: Artmed, 2017. 486p.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim Nova.** Recife/PE, v.30, n.2, p.351-355, 2007.

TEJADA, S.; MARTORELL, M.; CAPO, X.; PONS, A.; SUREDA, A. Coumarin and derivatives as lipid lowering agents. **Curr Top Med Chem.** Espanha, v.17, n.4, p.391-398, 2017.

VOGEL, G.M.T.; MEULEMAN, D.G.; BOURGONDIËN, F.G. M.; HOBBELEN, P.M.J. Comparison of two experimental thrombosis models in rats effects of four glycosaminoglycans. **Thromb Res.** Holanda, v.54, p.399-419, 1989.

ZONG, S.; JI, J.; LI, J.; YANG, Q.H.; YE, M. Physicochemical properties and anticoagulant activity of polyphenols derived from *Lachnum singerianum*. **J Food Drug Anal.** China, v.25, p.837-844, 2017.



## ANEXO I - Parecer nº 32/2018/CEUA/PROPPG

SEI/UFTM - 0106775 - Parecer Técnico

[https://sei.uftm.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_im...](https://sei.uftm.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento_im...)

**Universidade Federal do Triângulo Mineiro**  
 Comissão de Ética no Uso de Animais  
 R. Conde Prados, nº 191 - Bairro Abadia Uberaba/MG CEP 38025-260  
 (34) 3700-6802 E-mail: ceua@uftm.edu.br

Uberaba, 08 de outubro de 2018

**PARECER Nº** 32/2018/CEUA/PROPPG  
**PROCESSO Nº** 23085.007919/2018-74  
**INTERESSADO:** KARINA FERRAZZOLI DEVIENNE VICENTINE, VALDO JOSE DIAS DA SILVA, PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**ASSUNTO:** Parecer de aprovação da proposta " Estudo da eficácia de *Scleria pterota* no tratamento de doenças tromboembolíticas "

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Estudo da eficácia de *Scleria pterota* no tratamento de doenças tromboembolíticas", registrada com o nº 23085.007919/2018-74, sob a responsabilidade de Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, em reunião de **05/10/2018**.

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Finalidade              | ( ) Ensino ( x ) Pesquisa Científica  |
| Vigência da autorização | 22/10/2018 à 30/06/2019   |
| Espécie/Linhagem/Raça   | Ratos heterogênicos Sprague Dawley  |
| Nº de animais           | 64  |
| Peso/idade              | 250-280 gramas / 75 dias  |
| Gênero                  | Fêmeas  |
| Origem                  | Biotério Central da Universidade de São Paulo - USP, campus Ribeirão Preto. |

Prof. Dr. Aldo Rogelis Aquiles Rodrigues  
Coordenador da CEUA



Documento assinado eletronicamente por **ALDO ROGELIS AQUILES RODRIGUES**, Coordenador(a) da Comissão de Ética no Uso de Animais, em 08/10/2018, às 08:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 e no art. 14 da Resolução nº 34, de 28 de dezembro de 2017.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0106775** e o código CRC **9026AF75**.

## ANEXO I - Parecer nº 34/2018/CEUA/PROPPG

SEI/UFTM - 0115655 - Memorando

[https://sei.uftm.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento\\_im...](https://sei.uftm.edu.br/sei/controlador.php?acao=documento_im...)

**Universidade Federal do Triângulo Mineiro**  
 Comissão de Ética no Uso de Animais  
 R. Conde Prados, nº 191 - Bairro Abadia, Uberaba/MG CEP 38025-260  
 (34) 3700-6802 E-mail: ceua@uftm.edu.br

Memorando nº 34/2018/CEUA/PROPPG

Uberaba, 29 de outubro de 2018

Ao(À)

KARINA FERRAZZOLI DEVIENNE VICENTINE

|              |   |
|--------------|---|
| PARECER Nº   | 34/2018/CEUA/PROPPG   |
| PROCESSO Nº  | 23085.007919/2018-74  |
| INTERESSADO: | KARINA FERRAZZOLI DEVIENNE VICENTINE  |
| ASSUNTO:     | Aprovação de alteração de projeto " Estudo da eficácia de <i>Scleria pterota</i> no tratamento de doenças tromboembolíticas " |

## APROVAÇÃO DE ALTERAÇÃO DE PROJETO

Certificamos que o pedido de alteração do projeto de pesquisa intitulado "Estudo da eficácia de *Scleria pterota* no tratamento de doenças tromboembolíticas", registrada com o nº 23085.007919/2018-74, sob a responsabilidade de Karina Ferrazzoli Devienne Vicentine – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica – foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, em reunião de **19/10/2018**. De acordo com a solicitação de modificação e da aprovação em reunião o projeto de pesquisa passa a figurar da seguinte forma:

|                       |                            |
|-----------------------|----------------------------|
| Espécie/Linhagem/Raça | Ratos heterogênicos Wistar |
|-----------------------|----------------------------|

|               |   |
|---------------|---|
| Nº de animais | 64  |
| Peso/idade    | 150-180 gramas / 5 - 6 semanas                              |
| Gênero        | Machos  |
| Origem        | Biotério Central da Universidade Federal de Uberlândia-UFU. |

Prof. Dr. Aldo Rogelis Aquiles Rodrigues  
Coordenador da CEUA

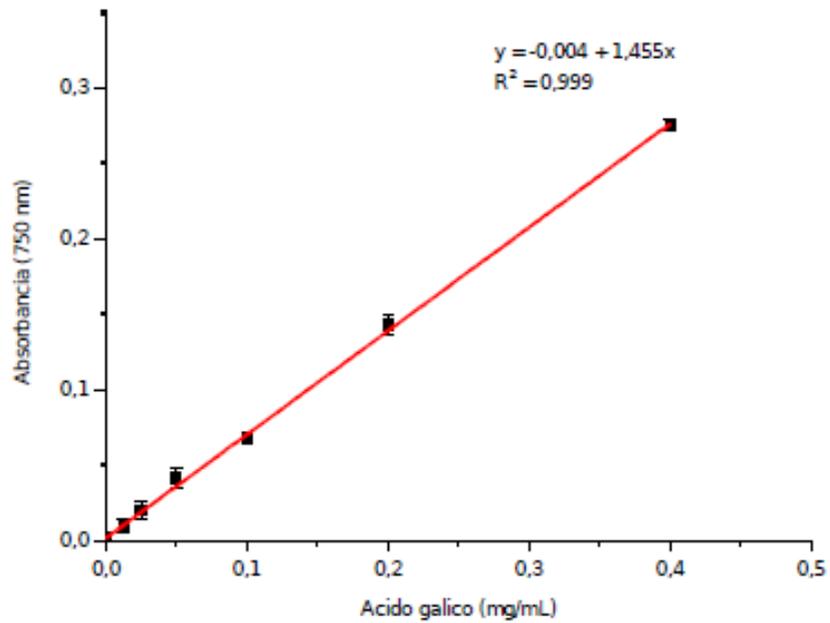


Documento assinado eletronicamente por **ALDO ROGELIS AQUILES RODRIGUES**, Coordenador(a) da Comissão de Ética no Uso de Animais, em 29/10/2018, às 15:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 e no art. 14 da Resolução nº 34, de 28 de dezembro de 2017.

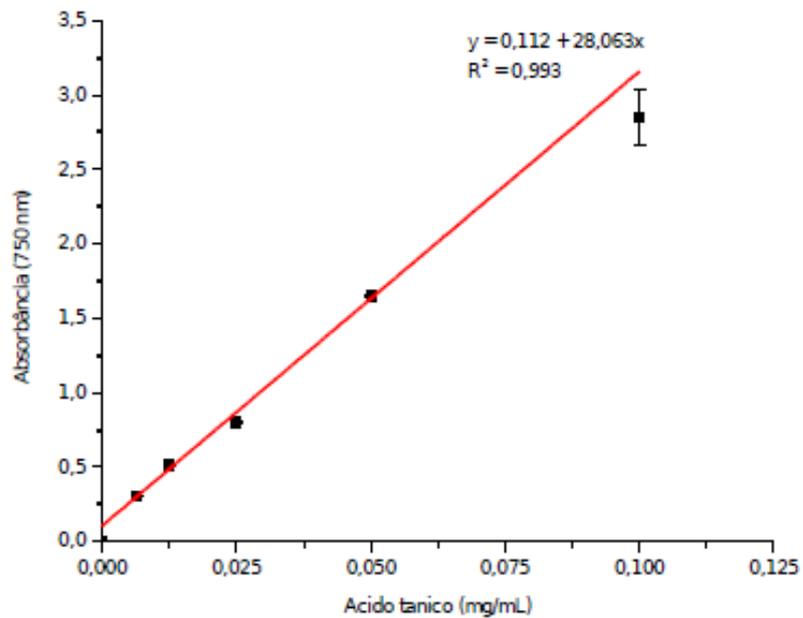


A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0115655** e o código CRC **1B15238E**.

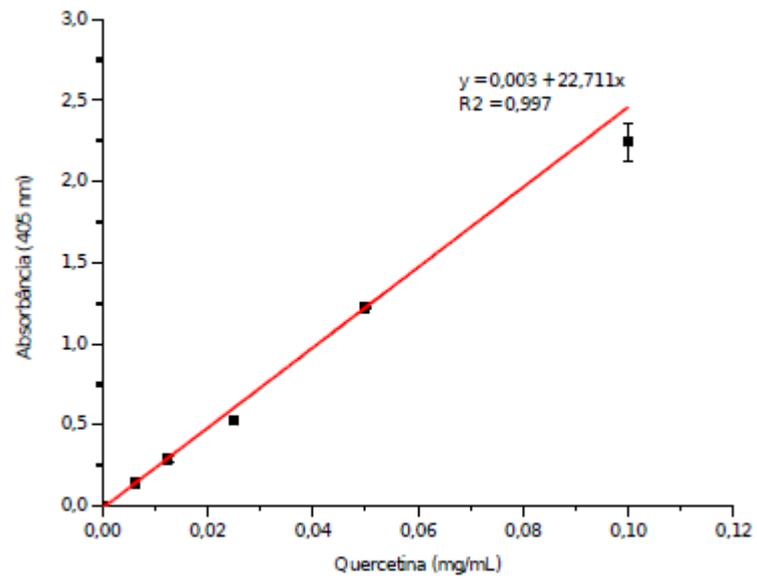
## ANEXO II



**Figura 1** - Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos presentes no chá de *S. pterota*.



**Figura 2** - Curva padrão de ácido tânico para determinação de taninos presentes no chá de *S. pterota*.



**Figura 3** - Curva padrão de quercetina para determinação de flavonóides presentes no chá de *S. pterota*.