

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

MAYSA ISERNHAGEN SCHAEGLER

**EFEITOS ANTIHIPERTENSIVOS SUSTENTADOS DE *Cuphea
carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. EM UM MODELO DE HIPERTENSÃO
RENOVASCULAR ASSOCIADO À OVARIECTOMIA**

DOURADOS

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

**EFEITOS ANTIHIPERTENSIVOS SUSTENTADOS DE *Cuphea
carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. EM UM MODELO DE HIPERTENSÃO
RENOVASCULAR ASSOCIADO À OVARIECTOMIA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Ciências
Biológicas e Ambientais da UFGD, como
requisito parcial à obtenção do título de
Biotecnólogo.

Orientador: Prof. Dr. Arquimedes
Gasparotto Junior

DOURADOS

2017

NOTA EXPLICATIVA

Este trabalho de Conclusão de Curso é apresentado em formato alternativo – artigo a ser submetido para publicação – de acordo com o Regulamento de Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Biotecnologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais/FCBA/UFGD, constando do resumo, objetivos do trabalho e do artigo científico abordando os experimentos realizados, com resultados e discussão, além das considerações finais.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus, pois sem ele nada disso seria possível.

A minha família que me deu forças e incentivo para continuar seguindo meus sonhos e objetivos, mesmo que isso levasse à distância entre nós. Por mostrar que sempre no final por mais difícil que seja tudo vai dar certo.

Ao Gustavo por me dar forças nas horas de desespero, entender meu mau humor e minhas crises de insegurança. Por corrigir meus erros gramaticais e por me acompanhar nos finais de semana de experimentos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior por me aceitar em seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos e por ter me ajudado em tudo o que precisei. Muito obrigada.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia e Eletrofisiologia Cardiovascular, por me acolherem tão bem e aceitarem participar e me ajudar nessa jornada, sei que sem a ajuda e apoio de vocês tudo isso não seria possível.

A Fran por ser minha segunda orientadora e me ensinar o amor pela ciência e o quanto é importante se dedicar para que tudo transcorra da melhor forma possível, por estar sempre disposta a me ajudar e ensinar.

Aos meus amigos Ana, Carol, Lucas, Matheus e Jhon, por me acompanharem durante esses quatro anos, fazendo com que todos os meus dias fossem mais leves e felizes.

A todos os meus amigos e todas as pessoas que contribuíram de alguma forma durante esta etapa da minha vida.

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

SUMÁRIO

Lista de figuras	viii
Lista de tabelas	ix
Lista de abreviaturas	xi
Resumo	xii
1. OBJETIVOS	
1.1. Objetivo geral	13
1.2. Objetivos específicos	13
2. ARTIGO CIENTÍFICO 1 – “Sustained anti-hypertensive effects of <i>Cuphea carthagenensis</i> (Jacq.) J. F. Macbr. in a model os renovascular hypertension associated with ovariectomy”	
Resumo	15
1. Introdução	16
2. Material e métodos	17
3. Resultados.....	20
4. Discussão	28
5. Conclusão	29
Conflito de interesse	29
Contribuição dos autores	29
Agradecimentos	29
Financiamento	29
Referências	30
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34

4. Anexo 1 – Normas para produção de artigos na revista Fitoterapia	
.....	35

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Efeitos do tratamento prolongado com a fração solúvel em etanol de <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg e enalapril (15mg/kg), na pressão sistólica (A), diastólica (B), média (C) e frequência cardíaca (D).....	19
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) no volume urinário no primeiro dia de tratamento.....	20
Tabela 2- Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) no volume urinário no sétimo dia de tratamento.....	21
Tabela 3- Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) no volume urinário no décimo quarto dia de tratamento.....	21
Tabela 4- Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) no volume urinário no vigésimo primeiro dia de tratamento.....	22
Tabela 5- Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) no volume urinário no vigésimo oitavo dia de tratamento.....	22
Tabela 6- Efeitos do tratamento com a fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no primeiro dia de tratamento.....	24
Tabela 7- Efeitos do tratamento com a fração solúvel em etanol obtido da <i>Cuphea carthagenensis</i> (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no sétimo dia de tratamento.....	24

Tabela 8- Efeitos do tratamento com a fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no décimo quarto dia de tratamento..... 25

Tabela 9- Efeitos do tratamento com a fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no vigésimo primeiro dia de tratamento..... 25

Tabela 10- Efeitos do tratamento com a fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no vigésimo oitavo dia de tratamento..... 26

LISTA DE ABREVIATURAS

AVE – Acidente vascular encefálico

C+ - Controle positivo

ENAL – Enalapril

ESCC – Fração solúvel em etanol de *Cuphea carthagenensis*

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

UFGD – Universidade Federal da Grande Dourados

Sham- Controle negativo

RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica é caracterizada por valores de pressão arterial igual ou superior de 140/90 mm Hg e está relacionada com elevada mortalidade (cerca de 46,8 mil brasileiros por ano). Deste modo, pesquisas que priorizem novas estratégias de tratamento são de suma importância. Assim a busca do conhecimento popular acerca de plantas medicinais utilizadas para o tratamento de HAS e a comprovação pré-clínica de eficácia e segurança dos mesmos torna-se de grande importância. Dentre estas plantas encontra-se a *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr., popularmente conhecida como 'sete-sangrias', e utilizada popularmente no tratamento de diversas doenças cardiovasculares. O objetivo desse trabalho foi Investigar os efeitos reno e cardioprotetores do extrato aquoso obtido da parte aérea de *C. carthagenensis* em ratas Wistar ovariectomizadas e com hipertensão renovascular. Para isso, os efeitos renoprotetores e antihipertensivos prolongados foram avaliados através da diurese e aferição direta da pressão arterial, após o tratamento (pela via oral) com o veículo (água destilada), enalapril 15mg/kg e com a fração solúvel em etanol obtida da *C. carthagenensis* nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg. Somente a dose de 30 mg/kg apresentou diminuição na pressão arterial sistólica e nenhuma das doses testadas promoveu atividade diurética.

Palavras-chave: diurético, hipertensão, hipotensor, anti-hipertensivo, *Cuphea carthagenensis*.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral

Investigar os efeitos reno e cardioprotetores do extrato aquoso de *C. carthagenensis* em ratas Wistar ovariectomizadas e com hipertensão renovascular

1.2. Objetivos específicos

- Avaliar a diurese de ratas ovariectomizadas com hipertensão renovascular, tratadas por vias oral com veículo (água destilada), enalapril (15 mg/kg) e a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg.
- Avaliar atividade anti-hipertensiva de ratas ovariectomizadas e com hipertensão renovascular, ao final do tratamento prolongado dos grupos que receberam veículo (água destilada), enalapril (15 mg/kg) e a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg.

2. **ARTIGO CIENTÍFICO** – “Sustained anti-hypertensive effects of *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. in a model os renovascular hypertension associated with ovariectomy”

Artigo será submetido na revista Fitoterapia.

Efeitos anti-hipertensivos sustentados de *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr.
em um modelo de hipertensão arterial associado à ovariectomia

Maysa Isernhagen Schaedler^a, Cleide Adriane Signor Tirloni^a, Aniely Oliveira Silva^a,
Roosevelt Isaias Carvalho Souza^b, Ariany Carvalho dos Santos^b, Valdinei de Oliveira
Araújo^c, Arquimedes Gasparotto Junior^{a*}

^a Laboratório de Eletrofisiologia e Farmacologia Cardiovascular, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil

^b Laboratório de Histopatologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, MS, Brasil

^c Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais, Universidade Paranaense, Umuarama, PR, Brasil

*Autor correspondente: Laboratório de Eletrofisiologia e Farmacologia Cardiovascular, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados- Itahum, 12 Km, Box 533, 79.804-970 Dourados, MS, Brasil. Tel.: +55 (67) 3410-2333, Fax: +55 (67) 3410-2321.

E-mail : arquimedesgasparotto@gmail.com (A. Gasparotto Junior).

Resumo

As folhas de *Cuphea carthagenensis* conhecida como ‘sete-sangrias’ são utilizadas tradicionalmente na forma de chá no Brasil para o tratamento de doenças cardiovasculares. Desta forma este trabalho demonstrou através de ensaios pré-clínicos que o extrato aquoso de *C. carthagenensis* (30 mg/kg) possui atividade anti-hipertensiva em ratas Wistar castradas e hipertensas após o tratamento prolongado, contudo não foi identificado nenhuma atividade diurética presente na planta.

Palavras-Chaves: diurético, HAS, hipotensor, antihipertensivos.

1. Introdução

Cerca de dois terços de mortes no mundo são consequências de doenças não transmissíveis (OMS, 2015). Dentre elas está a hipertensão arterial sistêmica (HAS), um assassino silencioso que afeta 1,13 bilhões de pessoas ao redor do mundo e é um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares, incluindo o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular encefálico (AVE), assim como doenças renais crônicas (Brown et al., 2003; OMS, 2013). Um em cada três adultos possuem HAS, aumentando para uma em duas em pessoas com 50 anos ou mais, em ambos os sexos (OMS, 2013). Depois desta idade, a porcentagem é maior em mulheres do que em homens, em consequência da queda abrupta dos níveis de estrógeno no período pós-menopausa (Mozaffarian et al., 2015).

Normalizar os níveis de pressão arterial é importante para reduzir a mortalidade prematura devido a infartos e AVE, e para prevenir, a longo prazo, milhares de mortes ao redor do mundo (Bibbins-Domingo et al., 2010; OMS, 2013). Embora o tratamento da hipertensão seja teoricamente fácil uma vez que os medicamentos são baratos e o diagnóstico simples (Angel, Cock and Frieden, 2015), apenas cerca de 13% dos pacientes tem controle adequado da doença (Chow et al., 2013). Esta baixa taxa de adesão é devido ao curso assintomático, falta de conhecimento sobre a doença, relacionamento com o médico, longo período de tratamento, fatores demográficos como educação e idade, e ainda a dificuldade no acesso ao sistema de saúde básico (OMS, 2003). Para superar estas dificuldades, a população faz uso de plantas medicinais ou fitoterápicos no tratamento da HAS, uma vez que esses produtos naturais são consideradas “seguros”, acessíveis e de menor custo (Prando et al., 2015; Wet et al., 2016).

Para fomentar a pesquisa e desenvolvimento de plantas medicinais o Brasil desenvolveu a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que visa melhorar o acesso aos tratamentos, preservar conhecimentos tradicionais, utilizar a biodiversidade brasileira de forma sustentável e garantir à população que o uso de plantas medicinais seja seguro e eficaz (Ministério da saúde, 2006).

Apesar das plantas medicinais serem amplamente utilizadas para doenças cardiovasculares, seus efeitos cardioprotetores prolongados ainda são pouco conhecidos e estudados. Uma planta medicinal extensivamente utilizada pela população no

tratamento de HAS, aterosclerose e doenças circulatórias é a *Cuphea carthagenensis* J. F. Macbr. (Lythraceae), popularmente conhecida como ‘sete-sangrias’. Essa espécie é encontrada no Brasil, Hawaii e nas Ilhas do Pacífico Sul (Bolson et al., 2015; Graham et al., 2006; Vendruscolo et al., 2006). Dentre os principais metabólitos secundários encontrados nessa espécie, destacam-se diversos flavonóides glicosilados, triterpenos, taninos e proantocianidinas (González et al., 1994; Krepsky et al., 2012). Ensaios *in vitro* confirmaram atividade antioxidante (Bergmeier et al., 2014; Schuldt et al., 2004) e inibição da enzima conversora de angiotensina I (Braga et al. 2000). Além disso, estudos pré-clínicos relatam efeitos antiaterosclerótico e hipocolesterolêmico (Barboza et al. 2016; Biavatti et al. 2004).

Apesar do uso muito difundido desta espécie pela população e evidências farmacológicas sobre seus efeitos cardiovasculares, a atividade cardioprotetora ainda não foi cientificamente avaliada. Deste modo, investigamos a atividade anti-hipertensiva e diurética de *C. carthagenensis* em ratas Wistar hipertensas e ovariectomizadas para simular grande parte da população de mulheres acima de 50 anos, afetadas pela HAS.

2. Metodologia

2.1. Preparo do extrato de *C. carthagenensis*

Folhas de *C. carthagenensis* foram coletadas do Horto de Plantas Medicinais da Universidade Paranaense (UNIPAR), Umuarama – Paraná – Brasil, a 430 m em relação ao nível do mar (S23°47’55–W53°18’48). Uma exsicata da espécie foi indentificada e depositada no herbário da UNIPAR sobre o número 2401.

As folhas de *C. carthagenensis* foram secas em estufa por um período de cinco dias, trituradas e submetidas ao processo de extração por infusão. Para tanto, adicionou-se 1l de água fervente para cada 100g de folha seca e triturada e aguardou-se até que o meio de extração atingisse a temperatura ambiente (~5h). O resíduo vegetal foi separado por filtração e posteriormente foi adicionado etanol em proporção de 1:3 para que ocorresse a precipitação de polissacarídeos e proteínas, obtendo-se a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* (ESCC), que subseqüentemente foi concentrada em evaporador rotatório, liofilizada e armazenada em freezer -20°C. O perfil fitoquímico

do ESCC e análise microquímica já foram previamente caracterizados por nosso grupo (Barboza et al. 2016). O extrato foi resuspenso em água filtrada (veículo), previamente aos experimentos *in vivo*.

2.2. Animais

Ratas Wistar pesando em torno de 200-300 g, foram obtidas do biotério central da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e acondicionadas no biotério da Faculdade de Ciências da Saúde. Os animais receberam enriquecimento ambiental, água e ração *ab libitum*. Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em temperatura ($22\pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa (20%) e ciclos claro/escuro (12h). Todo o estudo foi realizado de acordo com as Diretrizes Brasileiras para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos sendo aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da UFGD (número de autorização 46/2016).

2.3. Estudos Farmacológicos

2.3.1. Ovariectomia, indução da hipertensão e grupos experimentais

Os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg), via intraperitoneal, para realização da ovariectomia, de acordo com Lasota et al. (2004). No mesmo procedimento cirúrgico foi induzida a HAS através da técnica descrita por Golblatt e colaboradores (dois rins um clipe – 2R1C), conforme descrito por Umar et al. (2010). Por fim foi administrada salina (2 ml/rato, via subcutânea, em dose única), antibiótico (enrofloxacina, 10 mg/kg, via subcutânea, em dose única) e antiinflamatório (indometacina, 2 mg/kg, por via oral, por um período de 3 dias), para adequada recuperação dos animais.

Após 30 dias do processo cirúrgico os animais foram randomizados e divididos em seis grupos experimentais (n=10) para realização dos seguintes tratamentos uma vez ao dia (via oral), durante 28 dias. Os grupos finais foram:

- 1) Controle negativo (Sham): ratas não ovariectomizadas, normotensas, tratadas com veículo (água destilada);
- 2) Controle positivo (C+): ratas ovariectomizadas, hipertensas e tratadas com veículo (água destilada);

- 3) ESCC 30: ratas ovariectomizadas, hipertensas e tratadas com a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* na dose de 30 mg/kg;
- 4) ESCC 100: ratas ovariectomizadas, hipertensas e tratadas com a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* em uma dose de 100 mg/kg;
- 5) ESCC 300: ratas ovariectomizadas e hipertensas que receberam a fração solúvel em etanol de *C. carthagenensis* em uma dose de 300 mg/kg;
- 6) Enalapril (ENAL): ratas ovariectomizadas, hipertensas e tratadas com enalapril na dose de 15 mg/kg.

2.3.2. Diurese

A investigação da atividade diurética da ESCC foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Kau et al. (1984) com pequenas modificações (Gasparotto Junior et al., 2009). Dezoito fêmeas foram submetidas a jejum (6h) com acesso livre a água. Antes dos tratamentos todos os animais receberam uma sobrecarga de salina (0,9% NaCl; 5 ml/100g) por via oral para induzir equilíbrio corporal de água e sal. Em seguida, os grupos foram tratados com as diferentes doses de ESCC e enal. Os grupos Sham e C+ receberam o mesmo volume de veículo. Imediatamente após os tratamentos, as ratas foram acomodadas em gaiolas metabólicas.

Amostras de urina foram coletadas com pipetas graduadas após 1, 2, 4, 6, e 8 horas dos tratamentos. Ao fim do período experimental, o pH foi aferido com um pHmetro Even (Prolab, São Paulo, Brasil) e a densidade foi mensurada com auxílio de um refratômetro manual. As amostras de urina foram conservadas em geladeira para posterior determinação dos níveis de Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ e Cl⁻ em um sistema automatizado (Roche® Cobas Integra 400 plus). Os resultados foram expressos em mEq/min/100g e as taxas de excreção (TE) de Na⁺, K⁺, Cl⁻ e Ca⁺⁺ foram obtidas de acordo com a equação (1):

(1)

$$TE = U_x \times V$$

U_x: Concentração de eletrólitos (mEq/L)

V: Volume urinário (ml/min)

2.3.3. Pressão sistólica, diastólica e frequência cardíaca

No final do período de tratamento os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg/Kg) e xilazina (20 mg/Kg), via intramuscular, e o anestésico foi suplementado a cada 60 minutos, se necessário. Em seguida realizou-se a administração de heparina (50 UI), por via subcutânea. A artéria carótida esquerda foi canulada e conectada a um transdutor acoplado à um sistema de registro (PowerLab[®], Chart, v4 .1; ADI Instruments, Castle Hill, Austrália). Após um período de estabilização hemodinâmica de 15 minutos, a pressão arterial sistólica, diastólica, média e a frequência cardíaca foram medidas por 5 minutos.

2.4. Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Dunnett. Os resultados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Um valor de p inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significativo.

3. Resultados

3.1. Efeitos do extrato de *C. carthagenensis* nas pressões sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca

Os efeitos do tratamento prolongado com a ESCC e enal sobre as pressões sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca podem ser observados na figura 1. Houve aumento significativo da pressão sistólica do grupo C+ ($117,8 \pm 8,3$ mm Hg) quando comparado com o grupo Sham ($90,2 \pm 7,8$ mm Hg). O mesmo ocorreu com os valores de pressão arterial média dos grupos Sham ($68,6 \pm 6,5$ mm Hg) e C+ ($92,1 \pm 7,0$ mm Hg).

Foi possível observar uma diminuição significativa das pressões arteriais e frequência cardíaca no grupo que recebeu o tratamento com enalapril quando comparado com o grupo controle positivo. Apenas o grupo de animais que receberam ESCC 30 mg/kg, apresentou uma diminuição significativa da pressão arterial sistólica

($91,1 \pm 4,1$ mm Hg) quando confrontado com o grupo controle positivo ($117,8 \pm 8,3$ mm Hg).

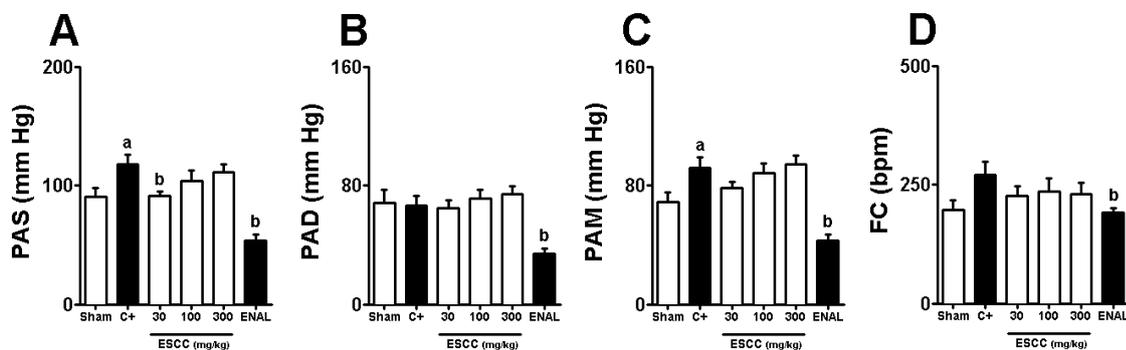


Figura 1. Efeitos do tratamento prolongado com a fração solúvel em etanol de *Cuphea carthagenensis* (ESCC) nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg e ENAL (15mg/kg), na pressão sistólica (A), diastólica (B), média (C) e frequência cardíaca (D). Os resultados mostram a média \pm E.P.M de 8-10 animais por grupo. As diferenças estatísticas foram obtidas através de ANOVA de uma via seguida pelo teste de Dunnett, ou pelo teste t quando aplicável. Para compararmos os grupos ESCC e C+ foi utilizado o pós-teste de Dunnett ($^b p < 0,05$). Para compararmos grupos enalapril e C+ ($^b p < 0,05$) e os grupos sham e C+ ($^a p < 0,05$) foi utilizado o teste t.

3.2. Efeitos renoprotetores do extrato de *C. carthagenensis*

3.2.1. Volume urinário

A tabela 1 mostra os volumes urinários correspondentes aos tempos de 1, 2, 4, 6 e 8 horas após a administração dos tratamentos e sobrecarga salina no primeiro dia de tratamento. Os grupos enal e C+ urinaram significativamente menos do que o grupo Sham em todos os períodos observados. O grupo que recebeu a dose de ESCC 30 mg/kg urinou 31%, 38% e 37% a menos do que o grupo Sham nos períodos de 4, 6 e 8h, respectivamente. Os grupos que receberam a dose de ESCC 100 e 300 mg/kg excretaram 38% e 31% a menos no período de 6h, 35% e 30% a menos no período de 8h respectivamente, quando confrontados com o grupo Sham.

De acordo com a tabela 2 correspondente ao sétimo dia de tratamento no período de 1h somente o grupo enal excretou um volume 37% menor do que o grupo Sham. Contudo no período de 2h somente o grupo que recebeu uma dose de ESCC 300 mg/kg

obteve um volume de urina semelhante com o grupo Sham. Nos períodos de 4, 6 e 8h todos os grupos obtiveram volumes de urina significativamente menores quando comparados com o grupo Sham.

Na tabela 3 correspondente ao décimo quarto dia pode ser observado que somente os grupos ESCC 100 e enal excretaram um volume 34% menor de urina comparado com o grupo Sham no período de 1h.

A tabela 4 correspondente ao vigésimo primeiro dia de tratamento mostra que o grupo CC100 excretou cerca de 30% a menos nos períodos de 2 à 8h quando comparado com o grupo Sham. Da mesma forma o grupo enal obteve um volume de urina 28% e 23% menor comparados com o Sham nos períodos de 4 e 6h.

Após 28 dias de tratamento a tabela 5 demonstra que o grupo enal excretou 30% e 27% a menos do que o grupo Sham nos períodos de 4 e 8h. Além deste grupo, os grupos ESCC100 e ESCC300 excretaram um menor volume de urina, 25% e 26% respectivamente quando comparados ao grupo Sham no período de 8h.

Tabela 1. Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) no volume urinário no primeiro dia de tratamento.

Grupos	Volume de urina (ml/100g/1h)	Volume de urina (ml/100g/2h)	Volume de urina (ml/100g/4h)	Volume de urina (ml/100g/6h)	Volume de urina (ml/100g/8h)
Sham	2,63 ± 0,15	4,28 ± 0,44	6,94 ± 0,69	8,77 ± 0,54	9,50 ± 0,47
ESCC30(30mg/kg)	2,46 ± 0,21	3,58 ± 0,24	4,62 ± 0,34*	5,52 ± 0,36*	6,02 ± 0,39*
ESCC100(100 mg/kg)	2,17 ± 0,16	3,48 ± 0,35	5,31 ± 0,61	5,51 ± 0,73*	6,24 ± 0,75*
ESCC300(300 mg/kg)	2,84 ± 0,21	3,88 ± 0,35	5,48 ± 0,32	6,09 ± 0,26*	6,65 ± 0,26*
Controle positivo	0,78 ± 0,06*	1,58 ± 0,11*	2,78 ± 0,17*	4,13 ± 0,24*	6,22 ± 0,51*
Enalapril (15mg/kg)	0,73 ± 0,20*	1,22 ± 0,24*	2,18 ± 0,33*	3,51 ± 0,46*	5,40 ± 0,79*

Valores demonstrados como média ± E.P.M.. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguido do teste de Dunnett onde *p<0,05, comparados ao grupo Sham.

Tabela 2. Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) no volume urinário no sétimo dia de tratamento.

Grupos	Volume de urina (ml/100g/1h)	Volume de urina (ml/100g/2h)	Volume de urina (ml/100g/4h)	Volume de urina (ml/100g/6h)	Volume de urina (ml/100g/8h)
Sham	2,69 ± 0,15	4,75 ± 0,31	6,75 ± 0,31	7,60 ± 0,31	8,13 ± 0,34
ESCC30(30mg/kg)	1,98 ± 0,22	3,48 ± 0,31*	4,45 ± 0,37*	5,12 ± 0,38*	5,71 ± 0,45*
ESCC100(100 mg/kg)	1,96 ± 0,20	3,28 ± 0,31*	4,22 ± 0,36*	4,87 ± 0,38*	5,33 ± 0,42*
ESCC300(300 mg/kg)	2,22 ± 0,22	3,94 ± 0,18	5,13 ± 0,24*	5,68 ± 0,27*	6,23 ± 0,32*
Controle positivo	2,27 ± 0,13	3,37 ± 0,13 *	3,84 ± 0,47*	5,58 ± 0,42*	6,19 ± 0,4*
Enalapril (15mg/kg)	1,71 ± 0,24*	2,83 ± 0,28*	4,78 ± 0,22*	4,52 ± 0,49*	5,42 ± 0,49*

Valores demonstrados como média ± E.P.M.. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguido do teste de Dunnett onde *p<0,05, comparados ao grupo Sham.

Tabela 3. Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) no volume urinário no décimo quarto dia de tratamento.

Grupos	Volume de urina (ml/100g/1h)	Volume de urina (ml/100g/2h)	Volume de urina (ml/100g/4h)	Volume de urina (ml/100g/6h)	Volume de urina (ml/100g/8h)
Sham	2,48 ± 0,24	3,70 ± 0,40	4,93 ± 0,57	5,85 ± 0,60	6,22 ± 0,51
ESCC30(30mg/kg)	2,09 ± 0,17	3,22 ± 0,23	4,23 ± 0,30	4,89 ± 0,32	5,32 ± 0,38
ESCC100(100 mg/kg)	1,64 ± 0,18*	2,80 ± 0,24	3,91 ± 0,25	4,72 ± 0,30	5,21 ± 0,32
ESCC300(300 mg/kg)	1,98 ± 0,10	3,26 ± 0,21	4,03 ± 0,24	4,53 ± 0,32	4,96 ± 0,35
Controle positivo	1,96 ± 0,15	3,34 ± 0,30	4,50 ± 0,41	5,13 ± 0,37	5,42 ± 0,44
Enalapril (15mg/kg)	1,66 ± 0,26*	3,59 ± 0,41	4,41 ± 0,41	5,16 ± 0,52	5,99 ± 0,59

Valores demonstrados como média ± E.P.M. as diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguido do teste de Dunnett onde *p<0,05, comparados ao grupo Sham.

Tabela 4. Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) no volume urinário no vigésimo primeiro dia de tratamento.

Grupos	Volume de urina (ml/100g/1h)	Volume de urina (ml/100g/2h)	Volume de urina (ml/100g/4h)	Volume de urina (ml/100g/6h)	Volume de urina (ml/100g/8h)
Sham	1,96 ± 0,19	3,33 ± 0,20	4,79 ± 0,31	5,38 ± 0,44	5,97 ± 0,49
ESCC30(30mg/kg)	2,08 ± 0,24	3,14 ± 0,29	4,16 ± 0,30	4,79 ± 0,24	5,17 ± 0,28
ESCC100(100 mg/kg)	1,38 ± 0,11	2,34 ± 0,16*	3,14 ± 0,19*	3,68 ± 0,18*	4,29 ± 0,27*
ESCC300(300 mg/kg)	2,08 ± 0,20	3,75 ± 0,19	4,82 ± 0,23	5,36 ± 0,17	5,87 ± 0,22
Controle positivo	2,35 ± 0,24	3,46 ± 0,31	4,64 ± 0,26	5,19 ± 0,25	5,70 ± 0,23
Enalapril (15mg/kg)	1,84 ± 0,29	2,64 ± 0,26	3,45 ± 0,31*	4,16 ± 0,29*	5,11 ± 0,37

Valores demonstrados como média ± E.P.M. as diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguido do teste de Dunnett onde *p<0,05, comparados ao grupo Sham.

Tabela 5. Efeitos da administração oral da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) no volume urinário no vigésimo oitavo dia de tratamento.

Grupos	Volume de urina (ml/100g/1h)	Volume de urina (ml/100g/2h)	Volume de urina (ml/100g/4h)	Volume de urina (ml/100g/6h)	Volume de urina (ml/100g/8h)
Sham	2,52 ± 0,34	4,32 ± 0,51	5,59 ± 0,58	6,20 ± 0,54	7,29 ± 0,63
ESCC30(30mg/kg)	2,14 ± 0,24	3,70 ± 0,36	5,31 ± 0,45	5,73 ± 0,47	6,28 ± 0,49
ESCC100(100 mg/kg)	1,96 ± 0,20	3,32 ± 0,29	4,47 ± 0,39	5,48 ± 0,30	5,53 ± 0,40*
ESCC300(300 mg/kg)	2,03 ± 0,17	3,27 ± 0,22	4,31 ± 0,24	4,84 ± 0,25	5,42 ± 0,28*
Controle positivo	1,95 ± 0,22	3,39 ± 0,23	4,71 ± 0,27	5,36 ± 0,27	6,11 ± 0,22
Enalapril (15mg/kg)	2,04 ± 0,20	3,31 ± 0,36	3,98 ± 0,37*	4,86 ± 0,50	5,39 ± 0,29*

Valores demonstrados como média ± E.P.M. as diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguido do teste de Dunnett onde *p<0,05, comparados ao grupo Sham.

3.2.2. Excreção de eletrólitos

A tabela 6 mostra que no primeiro dia de tratamento o grupo enal diminuiu significativamente a excreção dos eletrólitos Na^+ , Ca^{++} e Cl^- na urina de $1,034 \pm 0,082$ mEq/min/100g; $0,028 \pm 0,003$ mEq/min/100g e $1,221 \pm 0,104$ mEq/min/100g (grupo Sham) para $0,519 \pm 0,081$ mEq/min/100g; $0,009 \pm 0,002$ mEq/min/100g e $0,539 \pm 0,069$ mEq/min/100g, respectivamente. Assim como o grupo C+ diminuiu em 30% a excreção do eletrólito Cl^- .

Na tabela 7 pode ser observado que no sétimo dia de tratamento ocorreu significativa diminuição do eletrólito Na^+ de $1,234 \pm 0,048$ mEq/min/100g (Sham) para $0,919 \pm 0,064$ mEq/min/100g e $0,623 \pm 0,058$ mEq/min/100g nos grupos C+ e enal respectivamente. Da mesma forma ocorreu com o eletrólito Cl^- nos grupos ESCC100, C+ e enal, onde ocorreu a diminuição de 24%, 21% e 52% em comparação com o grupo Sham.

Na tabela 8 correspondente ao décimo quarto dia de tratamento não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de excreção dos eletrólitos quando confrontados com o grupo Sham, ao contrário do vigésimo primeiro dia observado na tabela 9, no qual o grupo que recebeu a dose de ESCC 300 mg/kg apresentou um aumento de 67%, 105%, 105% e 76% na excreção dos eletrólitos Na^+ , K^+ , Ca^{++} e Cl^- respectivamente. O grupo C+ também demonstrou aumento significativo de 38% e 155% na excreção dos eletrólitos K^+ e Ca^{++} . Contudo o grupo que recebeu enal diminuiu a excreção do Na^+ de $0,792 \pm 0,062$ mEq/min/100g (Sham) para $0,572 \pm 0,042$ mEq/min/100g.

Pode ser observado na tabela 10 correspondente ao vigésimo oitavo dia que o grupo tratado com enal excretou 58%, 39%, 33% e 33% a menos dos eletrólitos Na^+ , K^+ , Ca^{++} e Cl^- respectivamente. Além disso, os grupos ESCC30, ESCC100 e C+ diminuíram a excreção do Ca^{++} de $0,053 \pm 0,004$ mEq/min/100g (Sham) para $0,036 \pm 0,006$ mEq/min/100g; $0,039 \pm 0,002$ mEq/min/100g e $0,034 \pm 0,002$ mEq/min/100g respectivamente, assim como diminuíram a excreção do Cl^- em 31%, 41% e 25% quando comparado com o grupo Sham.

Tabela 6. Efeitos do tratamento com da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas do primeiro dia de tratamento

Grupos	TE _{Na⁺} (mEq/min/100g)	TE _{K⁺} (mEq/min/100g)	TE _{Ca⁺⁺} (mEq/min/100g)	TE _{Cl⁻} (mEq/min/100g)	Índice salurético ^b			
					Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻
Sham	1,034 ± 0,082	0,345 ± 0,037	0,028 ± 0,003	1,221 ± 0,104	-	-	-	-
ESCC30(30mg/kg)	1,079 ± 0,029	0,344 ± 0,027	0,028 ± 0,001	1,050 ± 0,033	1,04	0,01	1,00	0,85
ESCC100(100mg/kg)	1,019 ± 0,049	0,316 ± 0,021	0,029 ± 0,003	1,054 ± 0,038	0,98	0,91	1,03	0,86
ESCC300(300mg/kg)	1,167 ± 0,071	0,396 ± 0,029	0,035 ± 0,007	1,167 ± 0,061	1,12	1,14	1,25	0,95
Controle positivo	1,034 ± 0,049	0,323 ± 0,019	0,017 ± 0,001	0,870 ± 0,039 ^a	1,00	0,93	0,60	0,71
Enalapril (15mg/kg)	0,519 ± 0,081 ^a	0,239 ± 0,028	0,009 ± 0,002 ^a	0,539 ± 0,069 ^a	0,50	0,69	0,32	0,44

Os valores foram expressos em média ± E.P.M. n= 8-9. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguida pelo teste Dunnett (^ap<0,05), comparados ao grupo Sham. ^bÍndice salurético= mEq grupo/ mEq do grupo Sham.

Tabela 7. Efeitos do tratamento com da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no sétimo dia de tratamento

Grupos	El _{Na⁺} (mEq/min/100g)	El _{K⁺} (mEq/min/100g)	El _{Ca⁺⁺} (mEq/min/100g)	El _{Cl⁻} (mEq/min/100g)	Índice salurético ^b			
					Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻
Sham	1,234 ± 0,048	0,320 ± 0,034	0,020 ± 0,002	1,342 ± 0,061	-	-	-	-
ESCC30(30mg/kg)	1,238 ± 0,075	0,284 ± 0,011	0,029 ± 0,002	1,179 ± 0,070	1,00	0,88	1,45	0,87
ESCC100(100mg/kg)	1,064 ± 0,032	0,258 ± 0,009	0,021 ± 0,003	1,032 ± 0,035 ^a	0,86	0,80	1,05	0,76
ESCC300(300mg/kg)	1,431 ± 0,078	0,400 ± 0,022	0,033 ± 0,003	1,481 ± 0,080	1,15	1,25	1,65	1,10
Controle positivo	0,919 ± 0,064 ^a	0,353 ± 0,053	0,025 ± 0,006	1,065 ± 0,096 ^a	0,74	1,10	1,25	0,79
Enalapril (15mg/kg)	0,623 ± 0,058 ^a	0,216 ± 0,029	0,018 ± 0,004	0,653 ± 0,065 ^a	0,50	0,67	0,9	0,48

Os valores foram expressos em média ± E.P.M. n= 8-9. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguida pelo teste Dunnett (^ap<0,05), comparados ao grupo Sham. ^bÍndice salurético= mEq grupo/ mEq do grupo Sham.

Tabela 8. Efeitos do tratamento com da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no décimo quarto dia de tratamento

Grupos	El _{Na} ⁺ (mEq/min/100g)	El _K ⁺ (mEq/min/100g)	El _{Ca} ⁺⁺ (mEq/min/100g)	El _{Cl} ⁻ (mEq/min/100g)	Índice salurético ^b			
					Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻
Sham	0,662 ± 0,041	0,205 ± 0,020	0,020 ± 0,003	0,717 ± 0,056	-	-	-	-
ESCC30(30mg/kg)	0,763 ± 0,042	0,222 ± 0,012	0,028 ± 0,003	0,779 ± 0,039	1,15	1,08	1,40	1,08
ESCC100(100mg/kg)	0,709 ± 0,035	0,200 ± 0,011	0,027 ± 0,001	0,682 ± 0,013	1,07	0,97	1,35	0,95
ESCC300(300mg/kg)	0,774 ± 0,108	0,266 ± 0,040	0,023 ± 0,004	0,854 ± 0,125	1,16	1,29	1,15	1,19
Controle positivo	0,751 ± 0,058	0,257 ± 0,018	0,027 ± 0,004	0,827 ± 0,053	1,13	1,25	1,35	1,15
Enalapril (15mg/kg)	0,744 ± 0,043	0,201 ± 0,018	0,013 ± 0,002	0,790 ± 0,044	1,12	0,98	0,65	1,10

Os valores foram expressos em média ± E.P.M. n= 8-9. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguida pelo teste Dunnett (^ap<0,05), comparados ao grupo Sham. ^bÍndice salurético= mEq grupo/ mEq do grupo Sham.

Tabela 9. Efeitos do tratamento com da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no vigésimo primeiro dia de tratamento

Grupos	El _{Na} ⁺ (mEq/min/100g)	El _K ⁺ (mEq/min/100g)	El _{Ca} ⁺⁺ (mEq/min/100g)	El _{Cl} ⁻ (mEq/min/100g)	Índice salurético ^b			
					Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻
Sham	0,792 ± 0,062	0,198 ± 0,016	0,020 ± 0,001	0,847 ± 0,066	-	-	-	-
ESCC30(30mg/kg)	0,714 ± 0,036	0,186 ± 0,011	0,032 ± 0,004	0,751 ± 0,036	0,90	0,93	1,60	0,88
ESCC100(100mg/kg)	0,609 ± 0,018	0,166 ± 0,008	0,030 ± 0,002	0,632 ± 0,016	0,76	0,83	1,50	0,74
ESCC300(300mg/kg)	1,323 ± 0,063 ^a	0,406 ± 0,024 ^a	0,041 ± 0,003 ^a	1,496 ± 0,070 ^a	1,67	2,05	2,05	1,76
Controle positivo	0,958 ± 0,090	0,275 ± 0,022 ^a	0,051 ± 0,006 ^a	1,028 ± 0,096	1,20	1,38	2,55	1,21
Enalapril (15mg/kg)	0,572 ± 0,042 ^a	0,249 ± 0,027	0,035 ± 0,004	0,663 ± 0,052	0,72	1,25	1,75	0,78

Os valores foram expressos em média ± E.P.M. n= 8-9. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguida pelo teste Dunnett (^ap<0,05), comparados ao grupo Sham. ^bÍndice salurético= mEq grupo/ mEq do grupo Sham.

Tabela 10. Efeitos do tratamento com da fração solúvel em etanol obtido da *Cuphea carthagenensis* (ESCC) sobre os eletrólitos excretados na urina após 8 horas no vigésimo oitavo tratamento

Grupos	El _{Na} ⁺ (mEq/min/100g)	El _K ⁺ (mEq/min/100g)	El _{Ca} ⁺⁺ (mEq/min/100g)	El _{Cl} ⁻ (mEq/min/100g)	Índice salurético ^b			
					Na ⁺	K ⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻
Sham	1,455 ± 0,078	0,274 ± 0,031	0,053 ± 0,004	1,528 ± 0,096	-	-	-	-
ESCC30 (30mg/kg)	1,038 ± 0,120	0,237 ± 0,028	0,036 ± 0,006 ^a	1,058 ± 0,137 ^a	0,71	0,86	0,67	0,69
ESCC100 (100mg/kg)	0,977 ± 0,085	0,231 ± 0,021	0,039 ± 0,002 ^a	0,903 ± 0,052 ^a	0,67	0,84	0,73	0,59
ESCC300 (300mg/kg)	1,304 ± 0,086	0,342 ± 0,021	0,047 ± 0,003	1,427 ± 0,078	0,89	1,24	0,88	0,93
Controle positivo	1,126 ± 0,077	0,211 ± 0,012	0,034 ± 0,002 ^a	1,155 ± 0,071 ^a	0,77	0,77	0,64	0,75
Enalapril (15mg/kg)	0,614 ± 0,055 ^a	0,169 ± 0,011 ^a	0,036 ± 0,003 ^a	0,692 ± 0,057 ^a	0,42	0,61	0,67	0,67

Os valores foram expressos em média ± E.P.M. n= 8-9. As diferenças estatísticas foram obtidas através da ANOVA seguida pelo teste Dunnett (^ap<0,05). ^bÍndice salurético= mEq grupo/ mEq do grupo Sham.

4. Discussão

Tradicionalmente os brasileiros fazem uso do infuso obtido da *Cuphea carthagenensis* para o tratamento de doenças cardiovasculares tais como hipertensão e doenças crônicas renais (Bolson et al., 2015, Brown et al., 2003). Contudo não existem evidências pré-clínicas que corroborem para a afirmação destas propriedades presentes nesta espécie.

Este estudo teve como finalidade, investigar o efeito diurético e a atividade anti-hipertensiva em ensaios pré-clínicos para validar a sua utilização no tratamento da HAS. Contudo, os resultados obtidos referentes ao volume de urina e excreção de eletrólitos apontam que a *Cuphea carthagenensis* não possui atividade diurética em nenhuma das doses avaliadas (30, 100 e 300 mg/kg), pois não houve diferença significativa no volume de urina encontrado quando comparado com o grupo Sham. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos com a mesma planta (Prado et al., 2015).

Apesar da ausência da atividade diurética, os resultados obtidos apontam diminuição significativa da pressão arterial sistólica nos animais que receberam a dose de 30 mg/kg da fração solúvel em etanol de *Cuphea carthagenensis* quando comparados com o

controle positivo, demonstrando assim que através de outros mecanismos de ação o extrato possui atividade anti-hipertensiva. Portanto são necessários outros estudos que investiguem diferentes mecanismos de ação desta planta.

5. Conclusão

Os resultados obtidos nesse estudo apontam redução significativa da pressão arterial sistólica quando da administração da fração solúvel em etanol de *Cuphea carthagenensis* na dose de 30 mg/kg em ratas Wistar ovariectomizadas, confirmando o uso etnofarmacológico desta planta para o tratamento da hipertensão. Entretanto, a atividade diurética da planta não foi evidenciada. Futuros estudos devem ser realizados de forma a avaliar os mecanismos de ação ligados à atividade anti-hipertensiva do extrato.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesse com relação à publicação deste artigo.

Contribuição dos autores

MIS contribuiu com os experimentos *in vivo*, análises de dados, discussão e redação do manuscrito. CAST e AOS contribuíram com os experimentos *in vivo*. ACS e RICS contribuíram com análises histopatológicas. VOA preparou extrato de *C. carthagenensis*. AGJ foi responsável pela discussão de dados, correção do manuscrito e é o pesquisador sênior responsável por este trabalho.

Agradecimentos

Nossa imensa gratidão a Caio Gabriel Silva Campelo, a Graciela Beatris Lopes e a Thainá de Almeida Tomazetto pela inestimável ajuda nos experimentos, e a equipe do

laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário de Dourados por sua ajuda na realização das análises bioquímicas.

Financiamento

Este trabalho foi realizado com recursos da Fundação de Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado do Mato Grosso do Sul (FUNDECT, Brasil, 59 / 300.046 / 2015) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), 449464 / 2014-8).

Referências

- A. Gasparotto Junior, M. A. Boffo, E. L. Lourenço, et al., Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats, *J Ethnopharmacol* 122 (2009) 517-522.
- A. Lasota, D. Danowska-Klonowska, Experimental osteoporosis- different methods of ovariectomy in female white rats, *Roczniki Akademii Medycznej w Biaymstoku* 49 (2004) 129-131.
- A. Umar, G. Imam, W. Yimin, et al., Antihypertensive effects of *Ocimum basilicum* L. (OBL) on blood pressure in renovascular hypertensive rats, *Hypertens Res* 33 (2010) 727–730. doi: 10.1038/hr.2010.64
- A.G. González, E. Valencia, T.S. Expósito, J.B. Barrera, P. Gupta. Chemical components of *Cuphea* species. Carthagenol: a new triterpene from *C. carthagenensis*, *Planta Med* 60 (1994) 592–593.
- A.S. Driver, P.R.S.K. Kodavanti, W.R. Mundy, Age-related changes in reactive oxygen species production in rat brain homogenates, *Neurotoxicol Teratol* 22 (2000) 175-181.
- C. Pires, N. Martins, A.M. Carvalho, L. Barros, I.C.F.R. Ferreira, Phytopharmacologic preparations as predictors of plant bioactivity: A particular approach to *Echinacea purpurea* (L.) Moench antioxidant properties, *Nutrition*. 32 (2016) 834–839.

C.K. Chow, K.K. Teo, S. Rangarajan, et al. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries, *JAMA* 310 (2013) 959–968.

D. Bergmeier, P. H. D. Berres, D. Filippi, D. Bilibio, V. R. Bettioli, W. L. Priamo, Extration of total polyphenols from hibiscos (*Hibiscus sabdariffa* L.) and waxweed/ 'sete-sangrias' (*Cuphea carthagenesis*) and evaluation of their antioxidante potential, *Acta Scientiarum*, 36 (2014), 545-551.

D. Mozaffarian, E.J. Benjamin, A.S. Go, et al., Heart disease and stroke statistics-2015 update: A report from the American Heart Association, *Circulation* 131 (2015) 29-322. doi:10.1161/CIR.000000000000152.

E.Z. Schuldt, M.R. Farias, R.M.R. Valle, K. Ckless, Comparative study of radical scavenger activities of crude extract and fractions from *Cuphea carthagenensis* leaves, *Phytomedicine* 11 (2004) 523-529.

F. C. Braga, H. Wagner, J. A. Lombardi, A. B. Oliveira, Screening the Brazilian flora for antihypertensive plant species for *in vitro* angiotensin-I-converting enzyme inhibiting activity, *Phytomedicine* 7 (2000) 245-250.

G.S. Vendruscolo, L.A. Mentz, Estudo da concordância das citações de uso e importância das espécies e famílias utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa , Porto Alegre , RS , Brasil, *Acta Bot. Brasilica*. 20 (2006) 367–382. doi:10.1590/S0102-33062006000200012.

H. Aebi. Catalase in vitro, *Academic Press* 105 (2003) 121-126.

H. Wet, M. Ramulondi, Z.N. Ngcobo, The use of indigenous medicine for the treatment of hypertension by a rural community in northern Maputaland, South Africa, *South African J Bot*, 103 (2016) 78–88. doi:10.1016/j.sajb.2015.08.011.

J. P. Stice, J. S. Lee, A. S. Pechenino, A. A. Knowlton, Estrogen, aging and the cardiovascular system, *Future Cardiol*. 5 (2009) 93-103. doi:10.2217/14796678.5.1.93.

J. Sedlak, R.H. Lindsay. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent, *Anal Biochem* 25 (1968) 192–205.

K. Bibbins-Domingo, G.M. Chertow, P.G. Coxson, et al. Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease, *N Engl J Med* 362 (2010) 590–599.

L.N. Barboza, F.A. Lívero, T.B.L. Prando, et al. Atheroprotective effects of *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. in New Zealand rabbits fed with cholesterol-rich diet, *Journal of ethnopharmacology* 187 (2016) 134-45. doi: 10.1016/j.jep.2016.04.027

M. Bolson, S.R. Hefler, E.I.D. Chaves, A. Gasparotto Junior, E.L. Cardozo Junior, Ethno-medicinal study of plants used for treatment of human ailments, with residents of the surrounding region of forest fragments of Paraná, Brazil, *J Ethnopharmacol* 161 (2015) 1–10.

M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, *Analytical Biochemistry* 72 (1976) 248-254.

M. C. MASI, L.C. HAWKLEY, X. XU, T.D. VEENSTRA, J.T. CACIOPPO, Serum Estrogen Metabolites and Systolic Blood Pressure Among Middle-Aged and Older Women and Men; *American Journal of Hypertension* 22 (2009) 1148-1153.

M.J. Brown, J.K. Cruickshank, A.F. Dominiczak, Better blood pressure control: how to combine drugs, *Journal of Human Hypertension* 3 (2003) 53-59.

M.S.A. Shtayeh, R.M. Jamous, R.M. Jamous, N.M.Y. Salameh, Complementary and alternative medicine (CAM) use among hypertensive patients in Palestine, *Complement. Ther. Clin. Pract.* 19 (2013) 256–263. doi:10.1016/j.ctcp.2013.09.001.

M.W. Biavatti, C. Farias, F. Curtius, L.M. Brasil, S. Hort, L. Schuster, S.N. Leite, S.R.T. Prado, Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters, *Journal of Ethnopharmacology* 93 (2004) 385-389.

Ministério da Saúde, Política e programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos, primeira ed., Ministério da saúde, Brasil, 2006.

P. B. Krepsky, R. G. Isidório, J. D. F. Souza, S. F. Côrtes, F. C. Braga, Chemical composition and vasodilatation induced by *Cuphea carthagenensis* Preparations, *Phytomedicine* 19(2012) 953-957.

R.Gao, Z. Yuan, Z. Zhao, et al., Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dimutase enzyme activity, *Bioelectrochem Bioenerg* 45 (1998) 41–45.

S. A. Graham, J. V. Freudenstein, M. Luker, A Phylogenetic Study of *Cuphea* (Lythraceae) Based on Morphology and Nuclear Rdna ITS sequences, *Systematic Botany* 31 (2006) 764-778. doi: 10.1600/036364406779696004.

S.T. Kau, J.R. Keddi, D. Andrews, A method for screening diuretic agents in the rats. *J Pharmacol. Methods* 11 (1984) 67–75.

T.B. L. Prando, L.N. Barboza, F.M. Gasparotto, V. O. Araújo, C.A. S. Tirloni, L.M. Souza, E.L. B. Lourenço, A. J. Gasparotto, Ethnopharmacological investigation of the diuretic and hemodynamic properties of native species of the Brazilian biodiversity, *J. Ethnopharmacol.* 174 (2015) 369–378. doi:10.1016/j.jep.2015.08.029.

W.H. Habig, M.J. Pabst, W.B. Jakoby, Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation, *J Biol Chem* 249 (1974) 7130–7139.

WHO (World Health Organization), Adherence to long term therapies: Evidence for action, Geneva, 2003.

WHO (World Health Organization), cardiovascular diseases mortality: age-standardized death rate per 10000 population, 2000-2012. http://gamapserv.who.int/gho/interactive_charts/ncd/mortality/cvd/atlas. 2012 (acessado 27.01.17).

WHO (World Health Organization), Prevalence of raised blood pressure. http://gamapserv.who.int/gho/interactive_charts/ncd/risk_factors/blood_pressure_prevalence/atlas. 2015a (acessado 26.01.17).

WHO (World Health Organization). Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva: World Health Organization, 2015b.

WHO (World Health Organization). High blood pressure: a public health priority. World Health Day, 2013.

Z.Y. Jiang, J.V. Hunt, S.P. Wolff. Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein, *Anal Biochem*, 202 (1992), 384–389.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a realização do presente trabalho foi possível provar a eficácia da utilização do extrato de *Cuphea carthagenensis* no tratamento da HAS. Este estudo pode servir de base para a realização de estudos clínicos e futuras investigações dos mecanismos de ação envolvidos com a diminuição da pressão sistólica causado pela fração solúvel em etanol desta espécie estudada.

4. ANEXO 1 – Normas para publicação de artigos na revista Fitoterapia.