

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

PATRÍCIA REGINA TERÇO LEITE

Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears em ratos espontaneamente hipertensos

DOURADOS-MS

2021

PATRÍCIA REGINA TERÇO LEITE

Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears em ratos espontaneamente hipertensos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Mestre em Alimentos, Nutrição e Saúde.

**Área de concentração: Alimentos, Nutrição e Saúde.
Linha de Pesquisa: Alimentos e Saúde.**

Orientador: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Junior.

DOURADOS-MS

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

L533i Leite, Patrícia Regina Terço.
Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears em ratos espontaneamente hipertensos. / Patrícia Regina Terço Leite. – Dourados, MS : UFGD, 2021.

Orientador: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior.
Dissertação (Mestrado em Nutrição - Faculdade de Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Amaranthaceae. 2. Anti-hipertensivo. 3. Antioxidante. 4. Cardioprotetor. 5. Segurança I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.



UFGD

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE

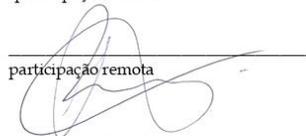
ATA DE DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA POR PATRÍCIA REGINA TERÇO LEITE, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM ALIMENTOS, NUTRIÇÃO E SAÚDE, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO "ALIMENTOS, NUTRIÇÃO e SAÚDE".

Aos quinze dias do mês de dezembro de dois mil e vinte e um, às 08 horas, em sessão pública, realizou-se na Universidade Federal da Grande Dourados a DEFESA de DISSERTAÇÃO de Mestrado intitulada "*Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais de *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears em ratos espontaneamente hipertensos*", apresentada por **Patrícia Regina Terço Leite**, do Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde, à Banca Examinadora constituída pelos membros: Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior -UFGD (presidente), Dr. Marcio Eduardo de Barros -UFGD e Dr.^a Francislaine Aparecida dos Reis Lívero -UNIPAR. Iniciados os trabalhos, o (a) presidente deu a conhecer ao(à) candidato(a) e aos integrantes da Banca as normas a serem observadas na apresentação da Defesa. Após o(a) candidato(a) ter apresentado a sua explanação, os componentes da Banca Examinadora fizeram suas arguições. Terminada a apresentação, a Banca Examinadora, realizou os trabalhos de julgamento, tendo sido o(a) candidato(a) considerado(a) APROVADO. **Os membros da banca abaixo assinados atestam que todos os membros participaram de forma remota¹ desta defesa de dissertação, considerando o(a) candidato(a) APROVADO, conforme declaração anexa.** Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior -UFGD


participação remota

Dr. Marcio Eduardo de Barros -UFGD


participação remota

Dr.^a Francislaine Aparecida dos Reis Lívero -UNIPAR


participação remota

Dourados, 15 de dezembro de 2021.

¹ conforme: § 3º do Art. 1º da Portaria RTR/UFGD n. 200, de 16/03/2020, Instrução Normativa PROPP/UFGD N° 1, de 17/03/2020 e Portaria CAPES n. 36 de 19/03/2020.

ATA HOMOLOGADA EM: ___/___/___, PELA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA / UFGD.
Pró-Reitoria de Ensino de Pós-Graduação e Pesquisa
Assinatura e Carimbo

AGRADECIMENTOS

Findo esta jornada com alegria, gostaria de agradecer a todos que contribuíram de alguma forma para que eu concluísse este trabalho e esta etapa tão importante na minha vida pessoal e profissional.

Agradeço primeiramente a uma pessoa muito especial, que aceitou o desafio de trabalhar arduamente nessa labuta que é uma pós graduação pioneira em sua área de pesquisa. Por ter enfrentado muitos desafios pelo caminho e não ter desistido, por ter tido coragem, força e determinação para manter suas atividades em dia durante uma pandemia mundial, mesmo na incerteza do que viria a acontecer, por isso eu sou grata pela sua força de vontade. Obrigada, Patrícia.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, por ser solícito e por me ajudar quando precisei, pelos ensinamentos, pelas palavras de incentivo, pelas contribuições neste trabalho e na minha vida durante os anos de mestrado. Muito obrigada por acreditar em mim.

Agradeço aos amores da minha vida, pois sem eles eu nada seria, ao meu companheiro, aos meus pais, avós paternos e maternos, bisavós maternos e paternos, tias e tios, amigos, obrigada por tudo. Sorte a minha puder contar com tanto de vocês.

Agradeço ao meu companheiro de vida Bruno por toda a força e motivação, por ser meu suporte e alicerce quando perdi as forças e desacreditei, por ter sempre um abraço e um colo amigo, por proferir palavras de incentivo e amor quando precisei, obrigada por acreditar em mim quando nem eu mesma acreditava mais, você adoça as nossas existências, obrigada por me chamar de cientista, inclusive, adoro quando me chamam assim, isso me enche de orgulho e motivação. Obrigada por apostar em nós e embarcar nas minhas ideias e decisões pra vida.

Agradecimento aos meus pais Elba e Donizete, primeiramente pela minha vida, também por serem presentes de tantas formas, vejo muito de vocês em mim e assim os tenho sempre por perto. Agradeço aos meus avós Toshi e Pedro, por terem me acolhido, por muitas vezes terem sido pais além de avós. A vocês, sou grata por terem me ensinado tanto, por constituírem um pedaço de mim, por me lembrarem que a vida é para ser vivida agora, por me ensinarem a ter força de vontade, coragem e disciplina, por me ensinarem a enxergar a vida com mais leveza, por me lembrarem que é possível viver com responsabilidade e diversão, obrigada por acreditarem em mim, por me

encorajarem, por inúmeras vezes terem sido meu suporte, obrigada por serem o que eu precisei nas vezes que tudo desandou,. Obrigada.

Agradeço a minha tia Candida, que me ensinou e ensina tanto sobre a vida, obrigada por ser fonte de motivação, inspiração e cuidado. Muito obrigada por ser presente em minha vida de forma tão gentil e delicada, creio que temos uma conexão de amor especial. Obrigada por tanto.

Agradeço aos meus colegas de laboratório que possibilitaram a execução deste trabalho, pelas inúmeras horas de ensinamento e convivência, essa experiência que vivemos ficará marcada na minha memória, obrigada por tanto, vocês foram e são incríveis.

Agradeço a FUNDECT pelo apoio e financiamento desta pesquisa, e por possibilitar a continuidade deste projeto durante a pandemia, foi imprescindível. Muito obrigada!

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação tem como propósito demonstrar o potencial anti-hipertensivo, e o efeito protetor nos sistemas cardiovascular e renal, do extrato aquoso obtido da planta medicinal *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears, aproveitando de toda a matéria vegetal (raízes, caule e folhas). Foram utilizados ratos espontaneamente hipertensos, com 6 meses de idade, com o intuito de assimilar as condições fisiológicas encontradas em homens adultos, visto que esta parcela da população é a mais afetada pela comorbidade, segundo os dados das pesquisas nacionais de saúde dos anos de 2013 e 2019. A pesquisa se encontra concluída e para o seu desenvolvimento foram feitas as seguintes análises: determinação do potencial toxicológico, observação de possíveis alterações comportamentais dos animais, caracterização dos componentes fitoquímicos e princípios ativos, averiguação dos efeitos sistêmicos na utilização da planta e, análise dos mecanismos farmacológicos envolvidos na sua atividade anti-hipertensiva no sistema cardiorrenais.

Este documento está estruturado de acordo com as normas estabelecidas pela Resolução PPGANS/FCS nº 268, de 22 de novembro de 2018, que dispõe sobre o Regulamento do Programa de Pós-Graduação em Alimentos, Nutrição e Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados. O arquivo é constituído de elementos pré-textuais, introdução, revisão da literatura, objetivo geral, objetivos específicos e o artigo científico, o qual apresenta dados sobre os métodos, os resultados e a discussão da pesquisa. O artigo está de acordo com as normas da revista *Planta Medica*, na qual foi submetido, e é apresentado na língua inglesa, de acordo com as normas de Vancouver.

RESUMO

A Hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença crônica, multifatorial e não transmissível, em que se verifica uma elevação persistente da pressão sistólica e/ou diastólica \geq 140 e/ou 90 mmHg. A *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears é uma espécie de planta brasileira que é amplamente utilizada na medicina popular. O presente estudo investigou os efeitos cardiovasculares e renais do extrato aquoso de *B. portulacoides* (EABP) contra a hipertensão em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Primeiramente, foi realizada a coleta do herbáceo para o preparo do extrato aquoso, para isso, foi utilizada a planta inteira (raízes, caules e folhas). Em sequência, a composição química foi analisada por espectrometria de massa em cromatografia líquida de ultra performance (ESI-MS). Depois, a toxicidade aguda foi avaliada por 14 dias em 10 ratas fêmeas Wistar com 90 dias de idade. Em seguida, após comprovada a segurança do EABP, foi realizada a diurese prolongada em ratos com 180 dias de idade, sendo 50 ratos machos SHR divididos em 5 grupos experimentais (n=10) e 10 ratos machos Wistar-Kyoto (grupo naive), os animais foram tratados uma vez ao dia por 28 dias com diferentes doses do extrato EABP (30, 100 e 300 mg/kg), hidroclorotiazida (HCTZ; 25 mg/kg) e água filtrada (controle negativo e naive: 10 ml/kg). A atividade diurética foi avaliada nos dias 1,14 e 28. Além disso, o papel das prostaglandinas e do óxido nítrico-cíclico guanosina monofosfato de potássio (NO-cGMP-K⁺) na atividade diurética também foi investigado, foram utilizados 30 ratos machos SHR divididos em 5 grupos experimentais (n=6) e 6 ratos machos Wistar-Kyoto (grupo naive), os animais receberam doses de indometacina (5 mg/kg), L-nitro-arginina-metil-éster (60 mg/kg), azul de metileno (100 mg/kg), tetraetilamônio (10 mg/kg) e água filtrada (CN e naive: 5 ml/kg), e após 1 hora foram tratados com EABP (300 mg/kg), HCTZ (25 mg/kg), e água filtrada (CN e naive 0,2 ml/100 g). Ao final dos tratamentos, os animais foram submetidos à avaliação da atividade eletrocardiográfica, pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) pelo método direto. Em seguida, o leito vascular mesentérico (LVM) e o rim esquerdo foi isolado e preparado para perfusão, para avaliar a reatividade vascular frente a diferentes concentrações de substâncias vasoativas (fenilefrina, angiotensina II, acetilcolina e nitroprussiato de sódio). Além disso, foram coletadas amostras de sangue para análises bioquímicas séricas, assim como as amostras teciduais de artéria aorta, coração e o rim contralateral, obtidas para investigação do sistema antioxidante tecidual, peso relativo, morfometria cardíaca e histologia de aludidos tecidos. A análise fitoquímica identificou a presença de ácido cafeico, ácido ferúlico e

vários flavonóides no EABP. Como dito anteriormente, o extrato não apresentou toxicidade ou qualquer sinal de alteração comportamental foi observado em ratas Wistar. Por fim, o tratamento prolongado com EABP (300 mg / kg) induziu atividade diurética significativa em ratos machos pela ativação da via do canal NO-GMPc-K⁺. Esses efeitos reduziram a pressão arterial e o estresse oxidativo e preveniram a disfunção vascular renal e a hipertrofia ventricular esquerda induzidas pela hipertensão.

Palavras-chave: Amaranthaceae; anti-hipertensivo; antioxidante; cardioprotetor; segurança.

ABSTRACT

Systemic arterial hypertension (SAH) is a chronic, multifactorial and non-communicable disease, in which there is a persistent elevation of systolic and/or diastolic pressure ≥ 140 and/or 90 mmHg. *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears is a Brazilian plant species that is widely used in folk medicine. The present study investigated the cardiovascular and renal effects of aqueous extract of *B. portulacoides* (AEBP) against hypertension in spontaneously hypertensive rats (SHR). First, the herbaceous was collected for the preparation of the aqueous extract, for this, the whole plant (roots, stems and leaves) was used. In sequence, the chemical composition was analyzed by mass spectrometry in ultra performance liquid chromatography (ESI-MS). Then, acute toxicity was evaluated for 14 days in 10 female Wistar rats at 90 days of age. Then, after proving the safety of AEBP, prolonged diuresis was performed in 180-day-old rats, with 50 male SHR rats divided into 5 experimental groups (n=10) and 10 male Wistar-Kyoto rats (naive group), the animals were treated once a day for 28 days with different doses of AEBP extract (30, 100 and 300 mg/kg), hydrochlorothiazide (HCTZ; 25 mg/kg) and filtered water (negative control and naive: 10 ml/kg). The diuretic activity was evaluated on days 1, 14 and 28. In addition, the role of prostaglandins and cyclic nitric oxide potassium guanosine monophosphate (NO-cGMP-K⁺) in diuretic activity was also investigated, using 30 male SHR rats divided into 5 experimental groups (n=6) and 6 male Wistar-Kyoto rats (naive group), the animals received doses of indomethacin (5 mg/kg), L-nitro-arginine-methyl-ester (60 mg/kg), methylene blue (100 mg/kg), tetraethylammonium (10 mg/kg) and filtered water (NC and naive: 5 ml/kg), and after 1 hour they were treated with AEBP (300 mg/kg), HCTZ (25 mg/kg), and filtered water (CN and naive 0.2 ml/100 g). At the end of the treatments, the animals were submitted to the evaluation of electrocardiographic activity, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), mean blood pressure (MAP) and heart rate (HR) by the direct method. Then, the mesenteric vascular bed (MVL) and the left kidney were isolated and prepared for perfusion to assess vascular reactivity to different concentrations of vasoactive substances (phenylephrine, angiotensin II, acetylcholine and sodium nitroprusside). In addition, blood samples were collected for serum biochemical analyses, as well as tissue samples from the aorta, heart and contralateral kidney, obtained to investigate the tissue antioxidant system, relative weight, cardiac morphometry and histology of the aforementioned tissues. Phytochemical analysis identified the presence of caffeic acid, ferulic acid and several flavonoids in the AEBP. As previously mentioned, the extract did not show toxicity or

any sign of behavioral change was observed in Wistar rats. Finally, prolonged treatment with AEBP (300 mg/kg) induced significant diuretic activity in male rats by activating the NO-cGMP-K⁺ channel pathway. These effects reduced blood pressure and oxidative stress and prevented hypertension-induced renal vascular dysfunction and left ventricular hypertrophy.

Keywords: Amaranthaceae; antihypertensive; antioxidant; cardioprotective; safety.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1. Isoformas do óxido nítrico (NOS), localizações principais, funções e estímulos	14
Figura 1. <i>Blutaparon portulacoides</i> em seu habitat natural com inflorescência	21

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT: Alanina aminotransferase
AM: Azul de metileno
AST: Aspartato aminotransferase
Ca⁺²: Cálcio
CES: Células endoteliais
COX: Ciclooxygenases
DCVs: Doenças cardiovasculares
DE: Disfunção endotelial
DM: Diabetes melitus
EABP: Extrato aquoso *Blutaparon portulacoides*
ECA: Enzima conversora de angiotensina
eNOS ou NOS-3: Óxido nítrico endotelial
EV: Endotélio vascular
GCs: Guanilato ciclase solúvel
GMPc: Guanosina monofosfato cíclica
GTP: Guanosina trifosfato
K⁺: Potássio
HAS: Hipertensão arterial sistêmica
HCTZ: Hidroclorotiazida
INDO: Indometacina
iNOS ou NOS-2: Óxido nítrico induzível por citocina
L-NAME: L-nitro-arginina-metil-ester
nNOs ou NOS1: Óxido nítrico neuronal
NO: Óxido nítrico
NOS: Óxido nítrico sintase
PA: Pressão arterial
PNS: Pesquisa Nacional de Saúde
PGs: Prostaglandinas
SHR: Ratos espontaneamente hipertensos
TEA: Tetraetilamônio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Hipertensão arterial	13
2.2 Endotélio vascular	14
2.3 Tratamentos para a hipertensão.....	19
2.4 <i>Blutaparón portulacoides</i> (A.St.-Hil.) Mears.	20
3 OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo geral.....	23
3.2 Objetivos específicos.....	23
4 ARTIGO	24
REFERÊNCIAS	35
ANEXOS.....	41
Anexo 1. Aprovação do projeto de pesquisa na Comissão de Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde – CEP/FCS/UFGD.	41
Anexo 2 – Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFGD.	42
Anexo 3 – Artigos publicados	43

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCVs) representam o principal motivo de morbimortalidade no mundo, contribuindo com 30% dos óbitos globais, desses casos, mais de 80% dos óbitos tem como causa o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral (WHO, 2016). Destaca-se a hipertensão arterial sistêmica (HAS), na sua preponderante associação direta e indireta nos casos supracitados. A HAS é responsável, ao menos, por 50% das mortes prematuras por DCVs, e estima-se que afete mais de 1 bilhão de pessoas no mundo (WHO, 2013). No entanto, continua amplamente indetectada, subdiagnosticada, subtratada e mal controlada, sendo um dos principais fatores de risco-chave que bem administrado pode contribuir para o enfrentamento das DCVs no planeta (WHO, 2016).

As intervenções farmacológicas e não-farmacológicas são de extrema importância para a prevenção e controle da HAS, uma vez que cerca de 60% dos brasileiros hipertensos não controlam a Pressão arterial (PA) mesmo com o uso de medicação. Sendo assim, a associação de terapêuticas se faz necessária, eficaz e benéfica para a redução da PA, assim como, para a diminuição de eventos cardiovasculares futuros ou reincidentes (CASEY *et al.*, 2018). Logo, alterações no estilo de vida e o uso regular de medicamentos são necessários, podendo então, contar com uma vasta classe de medicamentos antihipertensivos existentes (MALACHIAS *et al.*, 2016b).

Entretanto, em países de baixa e média renda, o acesso ao tratamento antihipertensivo é reduzido devido ao seu alto custo (WHO, 2013), em vista que, muitos indivíduos fazem uso de uma combinação de medicamentos, tornando a politerapia medicamentosa onerosa. Por isso, dentre as alternativas disponíveis, as plantas medicinais se destacam por seu uso ser culturalmente aceito, difundido pela população e transmitido ao longo de gerações (DUTRA *et al.*, 2016). Por isso, a implementação de terapêuticas eficazes pode contribuir para a solução da problemática, desde que haja adesão popular. Diante deste cenário, as terapias alternativas com comprovação farmacológica podem ser cruciais no tratamento da hipertensão (CHEN *et al.*, 2019). Outrossim, grupos de pesquisas e estudos científicos regionais e nacionais buscam prospectar novas espécies nativas que apresentam eficácia na terapêutica das doenças cardiovasculares (TIRLONI *et al.*, 2018).

O estudo de Coelho *et al.* (2019) identificou e classificou inúmeras espécies nativas consumidas pela população da região da Grande Dourados, a pesquisa apontou que os herbáceos da família Amaranthaceae eram um dos mais utilizados e indicados para o tratamento de distúrbios

orgânicos, dentre eles, o cardiovascular. Com efeito, existem alguns modelos experimentais que testaram diferentes extratos de plantas nativas brasileiras e demonstraram efeitos antihipertensivos em ratos (DE PAULA VASCONCELOS *et al.*, 2018) e cardioprotetores em coelhos alimentados com uma dieta rica em colesterol (GASPAROTTO *et al.*, 2018) Pelo exposto, em meio as potencialidades, encontra-se a *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae), uma espécie de planta medicinal nativa do Brasil, popularmente conhecida como “capotiraguá”, “pirrixiu” e “bredo-de-praia” (SALVADOR *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2009). A infusão de toda a planta é tradicionalmente usada para o tratamento de leucorréia e vulvovaginite (SALVADOR *et al.*, 2002).

Portanto, pesquisas etnobotânicas aliadas a grande biodiversidade brasileira, tornam possível a investigação das propriedades farmacológicas de plantas medicinais, e assim, evidenciam seus potenciais de ação, comprovam cientificamente o seu uso e, eventualmente, prospectam novos produtos para o tratamento de doenças cardiovasculares.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hipertensão arterial

A HAS é uma doença crônica, multifatorial e não transmissível, em que se verifica uma elevação persistente da pressão sistólica e/ou diastólica ≥ 140 e/ou 90 mmHg (CASEY *et al.*, 2018). Em seus estágios iniciais raramente apresenta sintomas e, por conta disso, a detecção precoce da HAS é prejudicada, o que dificulta a adesão aos cuidados necessários para o tratamento. Uma vez instaurada a condição, a reversão do quadro resta impossibilitada (WHO, 2013). Logo, essas circunstâncias facilitam a instauração da patologia e implicam em inúmeras alterações estruturais e metabólicas para o organismo. Consequentemente, todos estes fatos contribuem para a ocorrência dos altos índices de prevalência e morbimortalidade mundial (BARROSO *et al.*, 2021).

A pressão elevada pode ser ocasionada por diversos fatores como a genética, questões socioeconômicas e/ou ambientais, faixa etária (principalmente em idosos), gênero (preponderante em homens adultos e mulheres na pós-menopausa), etnia (embora as pesquisas nacionais não demonstrem diferenças significativas) e, principalmente, o estilo de vida, como a alta ingestão de sódio, potássio, alimentos industrializados e gorduras saturadas, assim como, o sedentarismo, o alcoolismo e o tabagismo (MALACHIAS *et al.*, 2016a). A HAS e os hábitos de vida são fatores modificáveis fortemente relacionados a distúrbios metabólicos que podem induzir modificações funcionais e/ou estruturais de órgãos-alvo (MALACHIAS *et al.*, 2016a). Essa situação pode ser agravada pela combinação de outros fatores de risco, como a obesidade abdominal, a dislipidemia, a intolerância à glicose e a DM (MALACHIAS *et al.*, 2016a; BRASIL, 2016; BRASIL, 2020; BARROSO *et al.*, 2021).

Apesar da alta prevalência a HAS é uma condição clínica que continua amplamente indetectada, subdiagnosticada, subtratada e mal controlada, e afeta mais de 1 bilhão de pessoas no mundo. É a maior causa de mortes prematuras no planeta e é responsável, ao menos, por 50% das mortes prematuras DCVs (WHO, 2013). No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) de 2019, a prevalência de adultos hipertensos diagnosticados foi de 23,9%, afetando 21,1% dos homens e 26,4% das mulheres, e a proporção de indivíduos acometidos pela doença cresce conforme a idade aumenta. Outrossim, ocorre em 2,8% da população de jovens adultos entre os 18 a 29 anos e afeta 20,3% dos adultos entre os 30 a 59 anos. Esses números sobem drasticamente

para 46,9% entre idosos de 60 a 64 anos, 56,6% para a população entre os 65 a 74 anos e 62,1% para aqueles com 75 anos de idade ou mais (BRASIL, 2020).

As DCVs representam o principal motivo de morbimortalidade no mundo e contribuem com 30% dos óbitos globais, desses casos, mais de 80% têm como causa o infarto do miocárdio e o acidente vascular cerebral, destaca-se a associação direta ou indireta da HAS nesses eventos (WHO, 2016). No Brasil, de acordo com a Diretriz Brasileira de Hipertensão, o percentual de óbitos em 2017 devido às DCVs foi de 27,3% e representaram 22,6% das mortes prematuras no país entre pessoas de 30 a 69 anos de idade. A HAS foi responsável pelo falecimento de 667.184 pessoas entre os anos de 2008 a 2017 e acarretou em um alto custo ao sistema de saúde público, superior ao gastos com doenças crônicas, por exemplo, como a DM e a obesidade (BARROSO *et al.*, 2021).

A Sociedade Americana de Hipertensão estabeleceu novos parâmetros para a condição de hipertensão e passou a englobar a pré-hipertensão como fator de risco (130/139 e/ou 80/89 mm Hg) (CASEY *et al.*, 2018; MALACHIAS *et al.*, 2016a). Sendo assim, conforme a PNS de 2013, a prevalência de HAS no Brasil irá de 32,5% para 63,2% em indivíduos adultos, ao incluir os pré-hipertensos. Por isso, surge a necessidade do monitoramento e controle dos níveis de PA, em vista dos enormes benefícios que poderão ser proporcionados à população e ao sistema de saúde pública (MALACHIAS *et al.*, 2016b).

É importante ressaltar que a temática se traduz em um dos grandes desafios mundiais, especialmente para aos países de média e baixa renda, uma vez que 80% das pessoas afetadas pela enfermidade vivem nessas regiões. A HAS é uma doença prevenível e facilmente tratável, porém, quase 50% dos adultos hipertensos desconhecem a sua condição de saúde, e menos de 50% destes são diagnosticados e recebem tratamento. Além disso, menos de 20% dos diagnosticados e tratados conseguem controlar a pressão ao longo da vida. Por fim, torna-se crucial a elaboração, o desenvolvimento e a implementação de estratégias na atenção básica para o enfrentamento da hipertensão e das doenças cardiovasculares (WHO, 2021).

2.2 Endotélio vascular

O endotélio vascular (EV) é uma membrana composta por uma fina camada de células endoteliais (CES) que revestem o interior dos vasos e formam uma importante barreira biológica e

mecânica. As CES controlam o tônus e o trânsito vascular, a pressão sanguínea, e a permeabilidade vascular, e atuam diante de alterações hemodinâmicas e metabólicas no lúmen dos vasos sanguíneos de todo o corpo. Logo, será um dos primeiros mecanismos de regulação ativados pelo organismo nas eventuais alterações de pressão sanguínea, com o intuito de promover a homeostase, através da liberação de fatores de relaxamento ou contração dependentes de endotélio em resposta aos estímulos. Entretanto, a elevação persistente da PA promove um desequilíbrio de suas funções e estruturas, o que modifica o potencial de ação e proteção do EV, facilitando a instauração da HAS (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU & UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018). O EV ativa alguns mecanismos para promover a hipotensão, principalmente através da ativação do óxido nítrico, e das vias da guanilato ciclase solúvel e da Ciclooxygenases (SAXENA *et al.*, 2018), estas serão abordadas, mas brevemente discutidas.

Diante do exposto, é importante ressaltar algumas das estruturas celulares que participam e atuam nos mecanismos de regulação da PA. Primeiramente, destaca-se a composição das artérias, que são formadas por três camadas túnicas, sendo estas, de fora para dentro, a adventícia, a média e a íntima. A mais externa possui terminações nervosas, tecido adiposo perivascular e elementos conectivos como os fibroblastos e o colágeno, sendo responsável por desempenhar uma importante função na remodelação vascular. A camada média é composta por músculo liso vascular e regula as respostas de dilatação e contração dos vasos sanguíneos. A túnica íntima é formada por uma monocamada de células endoteliais e, logo abaixo, por uma camada de tecido conjuntivo, em contato com o lúmen dos vasos, essa combinação constitui o endotélio vascular (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU & UZUN, 2017; MALACHIAS *et al.*, 2016b).

Na sequência, temos a importante atuação do endotélio, que através de seus receptores celulares é capaz de produzir e secretar moléculas que desempenham inúmeras funções celulares e hormonais no organismo, tais como, a regulação do tônus vascular, respostas inflamatórias, vasoativas, vasculoprotetoras, trombóticas, antitrombóticas e angiogênicas. Por essa razão, o endotélio é considerado um órgão endócrino e seu bom funcionamento é imprescindível, pois atua diretamente contra processos oxidativos e, por causa disso, confere proteção ao organismo (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU & UZUN, 2017; MALACHIAS *et al.*, 2016b).

A constante elevação da pressão intra-arterial, acima dos níveis saudáveis, é capaz de provocar lesões, adaptações e alterações das células endoteliais. Promovem, assim, uma resposta de causa e consequência que antecede a hipertensão e pode ser encontrada em pré-hipertensos. A

PA elevada e o estresse oxidativo podem gerar um desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio e os sistemas de defesa antioxidante, essa é a principal causa da disfunção endotelial. Isso quer dizer que o dano vascular, devido ao aumento progressivo da pressão, promove uma resposta celular pelo endotélio, e essa incessante ação contra o estresse oxidativo promoverá uma rigidez arterial da camada muscular média. Nota-se que as alterações estruturais iniciam devido ao aumento do débito cardíaco e da resistência periférica total, o que acarretará uma futura hipertrofia das paredes vasculares e, conseqüentemente, conduzirá a uma hipertrofia ventricular esquerda. Portanto, aludidos eventos são preditores da hipertensão e de desfechos cardiovasculares (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU & UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018; MALACHIAS *et al.*, 2016b).

As modificações das funções mecânicas e biológicas do endotélio são chamadas de disfunção endotelial (DE). A DE é responsável pelas alterações no metabolismo de fatores relaxantes e constritores, e, principalmente, por uma diminuição do óxido nítrico (NO) disponível. Destaca-se a importância da biodisponibilidade de NO e de seus mecanismos regulatórios, uma vez que a sua atividade tem significativa performance contra a hipertensão (KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018; AHMAD *et al.*, 2013).

O óxido nítrico (NO) é um gás de radical livre, uma molécula endógena de sinalização celular, e segundo Silverthorn (2017) é um neurotransmissor. Apresenta três isoformas sintetizadas a partir do aminoácido L-arginina e do oxigênio molecular pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), sendo elas, a NOS neuronal (nNOS ou NOS-1), a NOS induzível por citocina (iNOS ou NOS-2), e a NOS endotelial (eNOS ou NOS-3). O NO é sintetizado através da oxidação do nitrogênio guanidino da L-arginina pela NOS. Os análogos da L-arginina, como o éster metílico de nitro-L-arginina (L-NAME), são inibidores da atividade da NOS por substituir um ou ambos terminais de nitrogênio, causando uma diminuição da biodisponibilidade de NO, e com isso alterando a sua funcionalidade (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018; PALOZI *et al.*, 2017; AHMAD *et al.*, 2013; SILVERTHORN, 2017; CUZZOCREA e SALVEMINI, 2007).

O NO possui diversas funções de regulação e está presente em vários mecanismos fisiológico e fisiopatológico devido as suas características químicas, podendo atuar em todos os tecidos do organismo, com capacidade de ativar ou inibir várias moléculas. Em síntese, o Quadro 1 apresenta suas formas, localizações, principais funções e estímulos que desencadeiam a sua

liberação (MONCADA *et al.*, 1991; QUEIROZ e BATISTA, 1999; FLORA FILHO e ZILBERSTEIN, 2000; DUSSE *et al.*, 2003; BARRETO *et al.*, 2005).

Quadro 1 – Isoformas da NOS, localizações principais, funções e estímulos.

Isoformas	Localizações principais	Funções	Estímulos
NOS neuronal (nNOS ou NOS-1)	Sistemas nervoso periférico e central.	Regulação de excitabilidade neuronal e plasticidade sináptica	Angiotensina II; Fator de crescimento derivado de plaquetas.
NOS induzível por citocina (iNOS ou NOS-2)	Sistema imune; Sistema cardiovascular; Células do músculo liso.	Participação em atividades antimicrobiana e antitumoral	Citocinas pró-inflamatórias (Interleucina 1, fator de necrose tumoral α (TNF- α), interferon γ)
NOS endotelial (eNOS ou NOS-3)	Endotélio	Regulação da função vascular	Tensão de cisalhamento; Acetilcolina; Bradicinina; Histamina.

Fonte: adaptado de Konukoglu e Uzun, 2017

A eNOS tem produção contínua pelo endotélio, é cálcio (Ca^{+2}) dependente e é responsável pela regulação da função vascular, sendo um poderoso vasodilatador. A eNOS é liberada diante de um estresse de cisalhamento, e como resposta vasodilatadora ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), a qual, por sua vez, promoverá a conversão de guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclico (GMPc), modulará a abertura de canais de cálcio e potássio, diminuindo a concentração de cálcio intracelular, causando um relaxamento do músculo liso e, conseqüentemente, uma vasodilatação e a hipotensão. A via de sinalização NO-GCs-GMPc é uma das mais importantes do sistema cardiovascular, sendo a GCs uma molécula sinalizadora chave, esse canal pode ser prejudicado de várias formas, uma delas é através da inibição da GCs pelo Azul de metileno (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018; PALOZI *et al.*, 2017, MONCADA *et al.*, 1991, KOPINCOVÁ *et al.*, 2012, SANDNER *et al.*, 2019).

Ainda, a GCs após promover a conversão de GTP em GMPc, modulará a abertura dos canais de cálcio e potássio. Os canais de potássio (K^{+}) ativados por cálcio (Ca^{+2}) tem uma importante função no controle do tônus vascular, eles são abundantes nas células do músculo liso,

são modulados através da concentração de Ca^{+2} intracelular, e por isso, podem ser estimulados por vasodilatadores que aumentem os níveis intracelulares de AMPc e GMPc, e podem ser farmacologicamente inibidos por tetraetilamônio (SOBEY, 2001) (SORENSEN *et al.*, 2012).

Nos rins, a eNOS atua na manutenção da homeostasia dos sistemas circulatório e excretor. Entretanto, devido a disfunção endotelial causada pela hipertensão, o NO tem sua biodisponibilidade diminuída, o que prejudica a sua liberação e atuação na regulação dos níveis de PA. Por isso, a manutenção dos níveis saudáveis de óxido nítrico tem efeito benéfico e atividade antioxidante, e pode prevenir a disfunção endotelial renal e reduzir a gravidade e as consequências da doença hipertensiva (BARROSO *et al.*, 2021; KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018; PALOZI *et al.*, 2017, MONCADA *et al.*, 1991).

A elevação da PA conduz a uma resposta sistêmica para tentar reestabelecer a homeostase. Nos rins são encontradas as três isoformas do NO, sendo predominante a atuação da nNOS, presentes nas arteríolas glomerulares e ramos aferentes e eferentes, e da eNOS, elucidada anteriormente. Dessa forma, os rins participam deste processo através do aumento da filtração glomerular, promovendo uma maior excreção de água e eletrólitos, principalmente de sódio, e diminuindo a absorção dos mesmos pelos túbulos renais, na tentativa de regular a PA, este fenômeno é denominado natriurese de pressão (KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018, FLORA FILHO e ZILBERSTEIN, 2000; MONCADA *et al.*, 1991).

Entretanto, quando estabelecido um quadro de hipertensão primária, há também uma ativação da atividade simpática que aumenta a liberação de renina no organismo, que se opõe a esse mecanismo de ação, e promove uma retenção de íons e água, impedindo que a PA retorne aos níveis normais. Ao longo do tempo os rins passam por um desequilíbrio funcional na incessante tentativa de reestabelecer a homeostase, desse modo, estabelece novos parâmetros de pressão, acima dos considerados normais. Em síntese, a redução da função renal é uma condição clínica comum em pacientes hipertensos e pode estar associada à disfunção endotelial das arteríolas renais (KONUKOGLU e UZUN, 2017; SAXENA *et al.*, 2018).

Ademais, outro mecanismo vasodilatador ativado pelo EV é o das ciclooxigenases (COX). Segundo Cuzzocrea e Salvemini (2007), a COX possui uma via semelhante a do NO, tanto a NOS quanto a COX são enzimas importantes em processos de hipertensão, sendo que a COX converte o ácido araquidônico em prostaglandinas (PGs), prostaciclina e tromboxano A₂. Ainda, existe uma ligação importante entre as vias, visto que o NO ativa as enzimas COX a produzir PGs

(CUZZOCREA e SALVEMINI, 2007). As COX são responsáveis pela sinalização da inflamação, também estão presentes nas CES e atuam em resposta ao estresse de cisalhamento, e através da produção de prostanóides promovem uma potente vasodilatação, e exercem inibição da agregação plaquetária e da proliferação de células musculares lisas dos vasos (ARAUJO et al., 2005; TAVARES, 2012; BELUQUE, 2014). A inibição da COX pode resultar da administração de fármacos, como a indometacina, que é um potente inibidor não seletivo, acarretando em uma diminuição da quantidade de PGs produzida no endotélio, podendo causar um desequilíbrio das PGs hemostáticas, o que pode aumentar os riscos de eventos cardiovasculares (BATLOUNI, 2010; BORGES et al., 2012; TAVARES, 2012).

2.3 Tratamentos para a hipertensão

As intervenções farmacológicas e não-farmacológicas são de extrema importância para a prevenção e controle da PA, assim, o tratamento medicamentoso é uma das alternativas e tem como objetivos reduzir a morbimortalidade associada à hipertensão e prevenir futuros desfechos cardiovasculares. Para isso, a intervenção medicamentosa deve ser associada a uma mudança no estilo de vida e deve ser implementada de acordo com a idade e a presença ou não de doenças cardiovasculares. Por isso, é imprescindível a adesão à terapia, em vista dos inúmeros benefícios proporcionados à saúde, pois estudos demonstram que uma redução de 10-15 mmHg na PA sistólica, e de 5-8 mmHg na PA diastólica, promove uma diminuição de aproximadamente 1/3 na mortalidade por DCVs (BARROSO *et al.*, 2021; WHO, 2007).

As classes de anti-hipertensivos existentes são os diuréticos tiazídicos, os bloqueadores dos canais de cálcio, os inibidores da enzima conversora de angiotensina, os bloqueadores dos receptores da angiotensina II e os betabloqueadores. Destaca-se o uso das três primeiras classes referidas, visto que são considerados medicamentos de primeira linha, por apresentarem uma boa resposta no controle da PA e pela baixa incidência de efeitos adversos. Destes, os mais comuns são fraqueza, câimbras, disfunção erétil, hipovolemia, hipocalemia, hipopotassemia, hipomagnesemia, arritmias ventriculares, edema, tontura, cefaleia, tosse seca, dentre outros (BARROSO *et al.*, 2021).

Em países de baixa e média renda, o acesso ao tratamento antihipertensivo é reduzido devido ao seu alto custo (WHO, 2013), em vista que, muitos indivíduos fazem uso de uma combinação de medicamentos, tornando a politerapia medicamentosa onerosa. Por essa razão, a

população recorre a terapias alternativas com plantas medicinais para cuidados primários, mesmo sem comprovação científica. Devido a isso, na década de 70, a Organização Mundial da Saúde promoveu a Conferência Internacional sobre Atenção Primária em Saúde, com enfoque na necessidade de formulações e implementações de políticas públicas voltadas para a integração da medicina tradicional. Os estudos científicos que comprovam a segurança e a eficácia de espécies de plantas medicinais têm grande relevância, pois, através do uso seguro, promovem tratamento acessível e conferem saúde à população (WHO, 2013; BRASIL, 2006).

Com efeito, surge em 2006 a Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos no Brasil, com o intuito de garantir à população o acesso seguro e orientado por profissionais da saúde às terapias com plantas medicinais e/ou produtos fitoterápicos. Por conseguinte, promove a valorização da cultura e do conhecimento tradicional popular, a melhoria da atenção à saúde básica e, o desenvolvimento de profissionais, tecnologias e inovação (BRASIL, 2006). Além disso, o interesse no desenvolvimento de fitoterápicos tem aumentado pela ciência e indústrias farmacêuticas. Estima-se que 25% das drogas modernas são derivadas de plantas (CALIXTO, 2000). Por fim, é importante salientar que a biodiversidade brasileira dispõe de imenso potencial, o qual permanece ainda pouco estudado e é uma fonte valiosa para pesquisas etnobotânicas (COELHO *et al.*, 2019).

2.4 *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears.

A *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears é uma espécie de planta medicinal nativa do Brasil, popularmente conhecida como “capotiraguá”, “pirrixiu” e “bredo-de-praia” (SALVADOR *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2009). A infusão de toda a planta é tradicionalmente usada para o tratamento de leucorréia e vulvovaginite (SALVADOR *et al.*, 2002). Trata-se de uma espécie perene, facilmente encontrada em diversas regiões como a temperada, subtropical, tropical. No Brasil está presente na mata atlântica, restinga e zonas litorâneas. A planta pertence à família Amaranthaceae, que é composta por 2000 espécies, 170 gêneros, destes, 20 podem ser encontrados no país. Por conta disso, tem uma grande importância farmacológica e nutricional nacional, pela diversidade de plantas medicinais e alimentos oriundos dessa família que são tradicionalmente consumidos pela população (SIQUEIRA e GUIMARÃES, 1984; SIQUEIRA, 1987).

A figura 1 a seguir mostra a planta em seu habitat natural e detalhe de inflorescência.

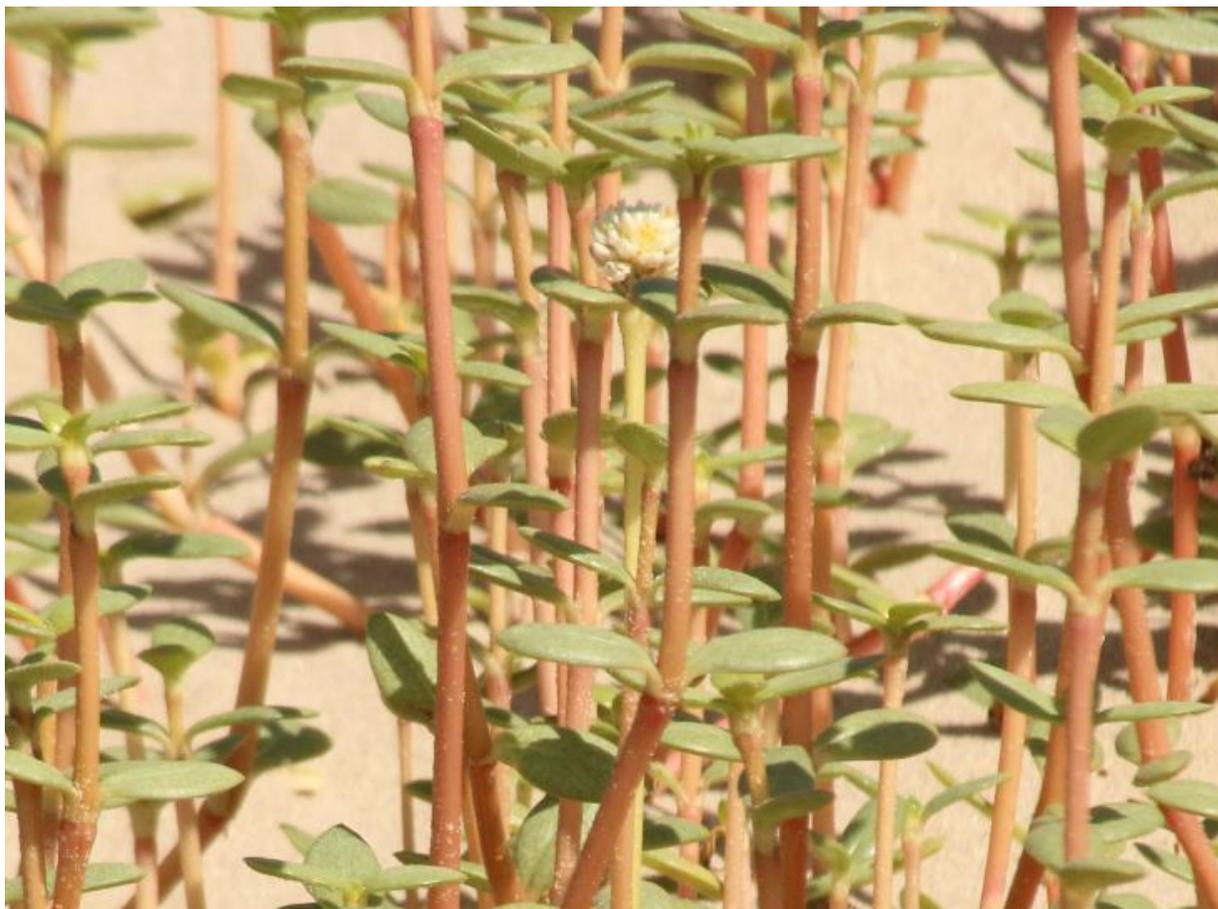


Figura 1: *Blutaparon portulacoides* em seu habitat natural com inflorescência.

Segundo Wanderley *et al.* (2002), a *B. portulacoides* é uma planta psamófito, heliófito e halófito, que ocorre com frequência em dunas, típica de ambiente transitório entre o ambiente aquático e terrestre, ainda, seus caules são estolões suculentos alongados, ramificados, aéreos ou subterrâneos, e com pigmentação avermelhada. As suas folhas são suculentas, oblongas, também possui inflorescência capituliforme, alvo-amarelada, brácteas, escariosas, hialinas e ovais. As suas flores contêm 5 sépalas, escariosas, conspicuamente pediceladas, glabras ou levemente pilosas, tubo estaminal curto, ovário oval, estilete curto. A sua cápsula oval é protegida pelas sépalas do perigônio (WANDERLEY *et al.*, 2002).

Outrossim, Coelho *et al.* (2019) identificou e classificou 71 espécies nativas utilizadas pela medicina popular na região da Grande Dourados, no Mato Grosso do Sul, área composta por 13 municípios e grandes reservas de povos nativos indígenas. Nesse estudo observou-se que os herbáceos da família Amaranthaceae eram utilizados no tratamento de distúrbios em vários sistemas orgânicos e, dentre eles, o cardiovascular. Entretanto, a literatura mundial relata poucos

experimentos científicos acerca de suas propriedades farmacológicas e de seus efeitos nos sistemas renal e cardiovascular, o que possibilita investigações em modelos experimentais a fim de comprovar a sua eficácia anti-hipertensiva.

O estudo fitoquímico de Salvador *et al.* (2002) isolou e identificou vários compostos bioativos em um extrato de etanol bruto de raízes e partes aéreas secas de *B. portulacoides*, incluindo metileno-dioxiflavonol, acil esteril glicosídeos, estigmasterol 3- β -O-glucosídeo-6'-O-palmitato e sitosteril 3- β -O-glucosídeo-6'-O-palmitato. Esses compostos apresentaram atividades antimicrobianas, e em modelo *in vitro* exibiram atividades leishmanicidas e antitripanicidas. Um estudo de inflamação induzida por micobactéria e carragenina em camundongos identificou propriedades anti-inflamatórias e antibióticas do extrato etanólico (Kassuya *et al.*, 2021). O estudo de Perreira *et al.* (2009) observou que o extrato etanólico teve atividade anti-inflamatória atuando contra a inflamação e o edema produzido pelo veneno da cobra jararacuçu (*Bothrops jararacússu*). Uma análise elementar determinou a concentração de metais inorgânicos presentes no extrato etanólico e aquoso (Salvador *et al.*, 2002).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar os efeitos cardiovasculares e renais do extrato aquoso obtido da *Blutaparon portulacoides* em ratos espontaneamente hipertensos (SHR).

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a caracterização fitoquímica do extrato aquoso da *B. portulacoides* (EABP);
- Investigar a toxicidade aguda da *B. portulacoides* em ratas Wistar fêmeas;
- Realizar o tratamento oral dos ratos SHR por 28 dias com diferentes doses do extrato aquoso (30, 100 e 300 mg/kg), hidroclorotiazida (HCTZ; 25 mg/kg) e água filtrada (controle negativo; 0,2 ml/100 g);
- Realizar o tratamento oral dos ratos SHR no primeiro dia de tratamento com indometacina (5 mg/kg), L-nitro-arginina-metil-éster (60 mg/kg), azul de metileno (100 mg/kg) e tetraetilamônio (10 mg/kg) e água filtrada (10ml/lg);
- Determinar possíveis alterações eletrocardiográficas decorrentes dos tratamentos;
- Avaliar, de forma direta (invasiva), a PA sistólica, diastólica, média e frequência cardíaca após o tratamento prolongado com o extrato;
- Avaliar a reatividade vascular em rim e leito mesentérico isolado e perfundido sob a administração de diferentes substâncias vasoativas (Fenilefrina (Phe), angiotensina II (Ang-II), acetilcolina (Ach) e nitroprussiato de sódio (NPS)) nos diferentes grupos experimentais.
- Mensurar diferentes parâmetros bioquímicos séricos (ureia, creatinina, proteínas totais, sódio, potássio, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), nitrito, nitrotirosina, malondialdeído, aldosterona e enzima conversora de angiotensina (ECA)).

The NO-cGMP-K⁺ Channel Pathway Participates in Diuretic and Cardioprotective Effects of *Blutaparon portulacoides* in Spontaneously Hypertensive Rats

Authors

Patricia Regina Terço Leite¹, Bethânia Rosa Lorençone¹, Karyne Garcia Tafarelo Moreno¹, Katiana Simões Lopes¹, Aline Aparecida Macedo Marques¹, Clara Soligo Fortini¹, Rhanany Alan Calloi Palozzi¹, Mariana Dalmagro⁵, Cândida Aparecida Leite Kassuya², Ariany Carvalho dos Santos³, Marcos José Salvador⁴, Arquimedes Gasparotto Junior¹ 

Affiliations

- 1 Laboratory of Cardiovascular Pharmacology (LaFaC), Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil
- 2 Laboratory of Immunoinflammation and Cell Culture, Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil
- 3 Laboratory of Histology, Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil
- 4 Institute of Biology, Department of Plant Biology, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil
- 5 Postgraduate Program in Biotechnology Applied to Agriculture, Paranaense University, Umuarama, Paraná, Brazil

Key words

Amaranthaceae, antihypertensive, antioxidant, *Blutaparon portulacoides*, cardioprotective, safety

received

August 24, 2021

accepted after revision

November 8, 2021

published online

Bibliography

Planta Med 2022

DOI 10.1055/a-1690-3566

ISSN 0032-0943

© 2022. Thieme. All rights reserved.

Georg Thieme Verlag KG, Rüdigerstraße 14, 70469 Stuttgart, Germany

Correspondence

Arquimedes Gasparotto Junior

Laboratory of Cardiovascular Pharmacology, Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados Rodovia Dourados-Itahum, km 12, P. O. Box 533, 79.804-970 Dourados, MS, Brazil

Phone: + 55 (67) 34 10 23 33, Fax: + 55 (67) 34 10 23 21

arquimedesjunior@ufgd.edu.br

ABSTRACT

Blutaparon portulacoides is a Brazilian plant species that is widely used in folk medicine. The present study investigated the role of an aqueous extract of *B. portulacoides* against hypertension in spontaneously hypertensive rats. The aqueous extract of *B. portulacoides* was obtained from the whole plant. Its chemical profile was analyzed by ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The acute toxicity of the aqueous extract of *B. portulacoides* was evaluated in female Wistar rats. Male 6-month-old spontaneously hypertensive rats then received the aqueous extract of *B. portulacoides* (30, 100, and 300 mg/kg), hydrochlorothiazide (25 mg/kg), or vehicle once daily for 28 days. On days 1, 14, and 28, the diuretic effects of the aqueous extract of *B. portulacoides* were evaluated. The role of prostaglandins and the nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate-potassium channel pathway in the diuretic activity of the aqueous extract of *B. portulacoides* was also investigated. At the end of the treatment, hepatic and renal biochemical markers, serum nitrotyrosine, malondialdehyde, nitrite, and aldosterone levels, and angiotensin-converting enzyme activity were measured. The electrocardiographic profile, blood pressure, and renal vascular reactivity were also assessed. The heart, kidneys, and liver were collected to determine relative organ weight, histopathology, and cardiac morphometry. Caffeic acid, ferulic acid, and several flavonoids were identified in the aqueous extract of *B. portulacoides*. No signs of toxicity were observed. Prolonged treatment with the aqueous extract of *B. portulacoides* (300 mg/kg) induced significant diuretic activity by activating the nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate-potassium channel pathway. These effects reduced blood pressure and oxidative stress and prevented renal vascular dysfunction and left ventricular hypertrophy that was induced by hypertension. Overall, the present data suggest that the aqueous extract of *B. portulacoides* has important diuretic and cardioprotective effects by activation of the nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate-potassium channel pathway.

ABBREVIATIONS

ACE	angiotensin-converting enzyme
ACh	acetylcholine
AEBP	aqueous extract of <i>Blutaparan portulacoides</i>
AEPB	aqueous extract of <i>Blutaparan portulacoides</i>
ALT	alanine aminotransferase
Ang II	angiotensin II
ANOVA	analysis of variance
AST	aspartate aminotransferase
BP	blood pressure
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
DBP	diastolic blood pressure
ECG	electrocardiography
ESI-MS	electrospray ionization-mass spectrometry
HCTZ	hydrochlorothiazide
HE	hematoxylin and eosin
HR	heart rate
INDO	indomethacin
LD ₅₀	median lethal dose
L-NAME	NG-nitro-L-arginine methyl ester
LV	left ventricle
LVH	left ventricular hypertrophy
MAP	mean arterial pressure
MB	methylene blue
MDA	malondialdehyde
NC	negative control
NO	nitric oxide
NO-cGMP-K ⁺	nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate-potassium
NT	nitrotyrosine
Phe	phenylephrine
PSS	physiological saline solution
RAAS	renin-angiotensin-aldosterone system
RV	right ventricle
RW%	relative organ weight
SBP	systolic blood pressure
SEM	standard error of the mean
sGC	soluble guanylate cyclase
SHRs	spontaneously hypertensive rats
SNP	sodium nitroprusside
TEA	tetraethylammonium
WT	wall thickness

Introduction

Hypertension is a chronic disease and an important risk factor for the development of heart attack, stroke, heart failure, and chronic kidney disease. The treatment of hypertension involves a range of strategies, including lifestyle changes and pharmacotherapy [1]. Although the effectiveness of conventional pharmacotherapy is unquestionable, adherence to treatment and the control of hypertension are major challenges in Brazil [2, 3].

In Brazil, especially because of its popular culture and relative difficulty accessing healthcare services, intense efforts are being made to search for complementary therapies. Among the avail-

able alternatives, medicinal plants are notable because their use is culturally accepted and has been transmitted over generations [4]. Despite the wide use of natural products, their safety and effectiveness are unknown in most cases. Thus, ethnopharmacological studies are essential to validate or refute medicinal plants as safe and effective alternative therapeutic agents [5].

Blutaparan portulacoides (A. St.-Hil.) Mears (Amaranthaceae) is a medicinal plant species that is native to Brazil, popularly known as "capotiraguá", "pirirôu", and "brede-de-praia" [6]. The species is found mainly on the coast of Brazil. Infusion of the whole plant is traditionally used for the treatment of leucorrhea and vulvovaginitis [6]. A phytochemical study isolated and identified several bioactive compounds in a crude ethanol extract of roots and dry aerial parts of *B. portulacoides*, including methylenedioxyflavonol, acyl steryl glycosides, stigmaterol 3- β -O-glucoside-6'-O-palmitate, and sitosterol 3- β -O-glucoside-6'-O-palmitate [7].

Previous biological studies revealed leishmanicidal, antimicrobial, and anti-inflammatory effects of different preparations of *B. portulacoides* [7, 8]. However, the available literature does not report the effects of the species on the renal and cardiovascular systems. Therefore, we investigated cardiovascular and renal effects of *B. portulacoides* using SHRs. We also investigated the pharmacological mechanisms that may be involved in its cardiorenal activity.

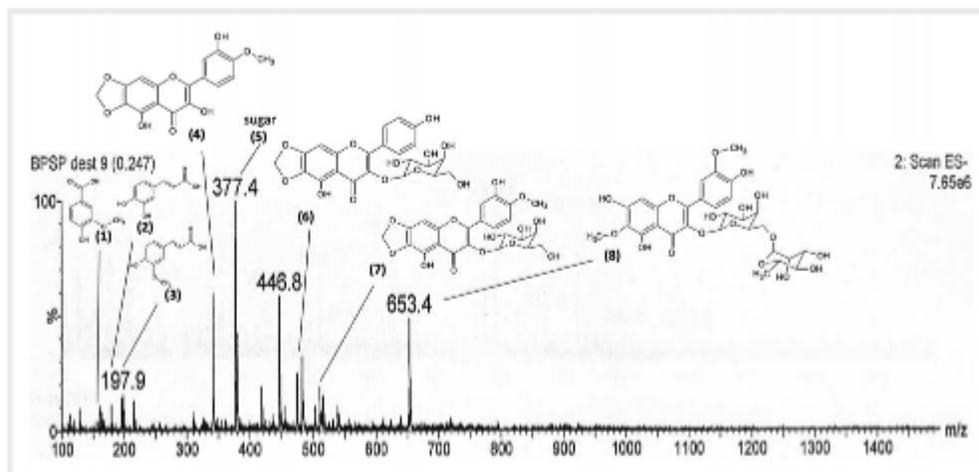
Results

► **Fig. 1** shows the ESI(-)-MS fingerprint of AEBP. The spectrometric techniques allowed us to detect the following compounds: vanillic acid (ESI-MS: $m/z = 167$ [M - H]⁻), caffeic acid (ESI-MS: $m/z = 179$ [M - H]⁻), ferulic acid (ESI-MS: $m/z = 195$ [M - H]⁻), 3,5,3'-trihydroxy-4'-methoxy-6,7-methylenedioxy-flavone (ESI-MS: $m/z = 343$ [M - H]⁻), sugar (ESI-MS: $m/z = 377$ [M - H]⁻), gomphrenol-3-glucoside (ESI-MS: $m/z = 475$ [M - H]⁻), 3,5,3'-trihydroxy-4'-methoxy-6,7-methylenedioxy-flavone-glucosylated (ESI-MS: $m/z = 505$ [M - H]⁻), and spinacetin-3-O-robinobioside (ESI-MS: $m/z = 653$ [M - H]⁻).

No deaths occurred, suggesting that the LD₅₀ should be higher than 2000 mg/kg. No significant changes were found in food or water consumption, body weight gain, or relative organ weight. The macroscopic examination and histopathological analysis did not show any significant changes in any of the examined organs (data not shown).

The effects of prolonged oral treatment with AEBP and HCTZ on urinary parameters are shown in ► **Table 1**. On days 1, 14, and 28, urinary volume significantly decreased in the NC and AEBP (30 and 100 mg/kg) groups compared with naïve male Wistar-Kyoto rats. Rats that were treated with AEBP at the highest dose (300 mg/kg) or HCTZ maintained urinary volume that was similar to naïve animals.

Urine samples that were collected on days 1, 14, and 28 had a significant reduction of renal sodium and chloride excretion in the NC and AEBP (30 and 100 mg/kg) groups compared with naïve rats. Treatment with AEBP at the highest dose (300 mg/kg) or HCTZ prevented this change, maintaining values that were similar to the naïve group. As expected, HCTZ increased renal potassium elimination throughout the experimental period. Urinary pH, den-



► Fig. 1 ESI(-)-MS fingerprints of AEPB. (1) Vanillic (ESI-MS: $m/z = 167$ [M - H]⁻), (2) caffeic acid (ESI-MS: $m/z = 179$ [M - H]⁻), (3) ferulic acid (ESI-MS: $m/z = 195$ [M - H]⁻), (4) 3,5,3'-trihydroxy-4'-methoxy-6,7-methylenedioxy-flavone (ESI-MS: $m/z = 343$ [M - H]⁻), (5) sugar (ESI-MS: $m/z = 377$ [M - H]⁻), (6) gomprenol-3-glucoside (ESI-MS: $m/z = 475$ [M - H]⁻), (7) 3,5,3'-trihydroxy-4'-methoxy-6,7-methylenedioxy-flavone-glucosylated (ESI-MS: $m/z = 505$ [M - H]⁻), and (8) spinacetin-3-O-robinobioside (ESI-MS: $m/z = 653$ [M - H]⁻).

sity, creatinine, and urea were not altered in any of the experimental groups (data not shown).

Effects of acute oral treatment with AEPB (300 mg/kg) and HCTZ in the absence and presence of INDO, L-NAME, MB, and TEA on different urinary parameters are shown in ► Table 2. Pretreatment with L-NAME, MB, and TEA abolished the diuretic effects of AEPB (300 mg/kg), keeping urinary volume and electrolyte excretion values similar to the NC group. Treatment with INDO and TEA significantly reduced the diuretic effects of HCTZ, with values that were close to the NC group. None of the inhibitors affected urinary parameters in the naïve and NC groups. None of the treatments altered electrocardiographic parameters in the different experimental groups (► Table 3).

The effects of prolonged oral treatment with AEPB (30, 100, and 300 mg/kg) and HCTZ on BP and HR are shown in ► Fig. 2. The animals in the NC group had significantly higher DBP, SBP, and MAP than the naïve rats. Treatment with HCTZ and AEPB at the highest dose (300 mg/kg) reduced BP to levels that were significantly lower than in the other experimental groups. The HR was not significantly altered in any of the groups.

The effects of prolonged oral treatment with AEPB and HCTZ on biochemical parameters are shown in ► Table 4. All animals in the NC, AEPB (30 and 100 mg/kg), and HCTZ groups exhibited a significant increase in MDA and NT levels, accompanied by a significant decrease in nitrite levels. Prolonged treatment with AEPB at the highest dose (300 mg/kg) prevented these changes, maintaining MDA, NT, and nitrite at similar levels as the naïve group. No significant changes in sodium, potassium, total protein, ALT, AST, creatinine, urea, or aldosterone levels or serum ACE activity were observed among all experimental groups.

The effects of prolonged oral treatment with AEPB and HCTZ on renal vascular reactivity are shown in ► Table 5. Animals in the NC, AEPB (30 and 100 mg/kg), and HCTZ groups that received Phe (1 and 3 nmol) and Ang II (0.3 and 1 pmol) exhibited a significant increase in the vasoconstrictor response compared with the naïve rats. The administration of AEPB at the highest dose (300 mg/kg) completely prevented this change, maintaining values close to the naïve animals.

The vasodilatory effects of ACh (30, 100, and 300 pmol) were significantly reduced in animals in the NC and AEPB (30 and 100 mg/kg) groups. Prolonged treatment with the highest dose of AEPB (300 mg/kg) maintained the ACh vasodilator response to levels that were similar to naïve rats. The effects of SNP were not significantly different among all experimental groups.

The effects of prolonged oral treatment with AEPB and HCTZ on relative organ weight and cardiac morphometry are shown in ► Table 6. We observed a significant increase in heart weight percentage and lateral ventricle WT in the NC and AEPB (30 and 100 mg/kg) groups compared with the naïve animals. Treatment with the highest doses of AEPB and HCTZ prevented these changes, maintaining these parameters at levels that were close to the naïve group. No signs of fibrillar derangement, fibrosis, inflammation, apoptosis, or necrosis of cardiac, renal, or hepatic cells were observed in any of the experimental groups (► Fig. 3).

Discussion

In the present study, we found that *B. portulacoides* exerted diuretic and cardioprotective effects in SHR. These effects were ap-

► **Table 1** Effects of prolonged oral treatment with AEPB (30, 100, and 300 mg/kg) and hydrochlorothiazide (HCTZ) on urinary parameters.

	Naïve	NC	AEPB (30 mg/kg)	AEPB (100 mg/kg)	AEPB (300 mg/kg)	HCTZ (25 mg/kg)
1st day						
Urinary volume (ml/100 g)	5.70 ± 0.44	3.15 ± 0.22 ^a	2.53 ± 0.27 ^a	3.03 ± 0.34 ^a	4.55 ± 0.81	4.72 ± 0.70
E_{Na}^+ (μEq/min/100 g)	2.97 ± 0.21	1.10 ± 0.22 ^a	1.04 ± 0.23 ^a	1.05 ± 0.28 ^a	2.60 ± 0.25 ^{bcd}	2.77 ± 0.28 ^{bcd}
E_{K}^+ (μEq/min/100 g)	1.31 ± 0.33	1.22 ± 0.32	1.37 ± 0.31	1.46 ± 0.33	1.55 ± 0.55	3.41 ± 0.31 ^{abcd}
E_{Cl}^- (μEq/min/100 g)	1.99 ± 0.44	0.54 ± 0.12 ^a	0.58 ± 0.14 ^a	0.48 ± 0.14 ^a	1.87 ± 0.33 ^{bcd}	1.74 ± 0.27 ^{bcd}
14th day						
Urinary volume (ml/100 g)	7.19 ± 0.55	3.96 ± 0.45 ^a	3.33 ± 0.41 ^a	4.01 ± 0.35 ^a	5.69 ± 0.95	5.68 ± 0.85
E_{Na}^+ (μEq/min/100 g)	3.12 ± 0.44	1.23 ± 0.28 ^a	1.78 ± 0.29 ^a	1.50 ± 0.36 ^a	5.31 ± 0.88 ^{bcd}	5.99 ± 0.77 ^{bcd}
E_{K}^+ (μEq/min/100 g)	1.33 ± 0.22	1.41 ± 0.19	1.42 ± 0.20	1.33 ± 0.29	1.40 ± 0.31	3.62 ± 0.21 ^{abcd}
E_{Cl}^- (μEq/min/100 g)	1.84 ± 0.33	0.51 ± 0.10 ^a	0.66 ± 0.12 ^a	0.68 ± 0.15 ^a	2.34 ± 0.33 ^{bcd}	2.46 ± 0.38 ^{bcd}
28th day						
Urinary volume (ml/100 g)	9.64 ± 1.03	4.64 ± 1.31 ^a	5.02 ± 1.42 ^a	5.49 ± 1.01 ^a	7.55 ± 1.41	7.98 ± 1.71
E_{Na}^+ (μEq/min/100 g)	3.39 ± 0.37	1.15 ± 0.13 ^a	1.34 ± 0.18 ^a	1.23 ± 0.19 ^a	4.21 ± 0.45 ^{bcd}	4.33 ± 0.51 ^{bcd}
E_{K}^+ (μEq/min/100 g)	1.22 ± 0.28	1.25 ± 0.30	1.36 ± 0.31	1.46 ± 0.39	1.40 ± 0.41	3.77 ± 0.33 ^{abcd}
E_{Cl}^- (μEq/min/100 g)	1.73 ± 0.31	0.41 ± 0.09 ^a	0.54 ± 0.11 ^a	0.59 ± 0.13 ^a	2.11 ± 0.42 ^{bcd}	2.14 ± 0.48 ^{bcd}

Statistical analyses were performed using one-way and two-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. ^a denote $p < 0.05$ when compared to the naïve animals; ^b denotes $p < 0.05$ when compared to the NC-group; ^c denotes $p < 0.05$ when compared to the AEPB 30 mg/kg; ^d denotes $p < 0.05$ when compared to the AEPB 100 mg/kg; ^e denotes $p < 0.05$ when compared to the AEPB 300 mg/kg; AEPB: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Blutaparou portulacoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naïve: normotensive animals that received only the vehicle

parently attributable to the activation of the NO-cGMP-K⁺ channel pathway and associated with a systemic antioxidant response.

In the first stage of this work, we obtained AEPB and performed an acute toxicity study in female rats. We used female rats because the literature indicates that conventional LD₅₀ tests show little differences in sensitivity between sexes. In cases in which differences are observed, females are generally slightly more sensitive than males [9]. We found that AEPB at a dose up to 2000 mg/kg can be considered safe because it did not induce any significant behavioral or physiological changes in female rats.

For the pharmacological assays, we used 6-month-old male SHRs as the experimental subjects. Hypertension in SHRs reaches a plateau between weeks 20 and 28 of life, with no influence of sex [10, 11]. Similarities in hypertension that are observed between SHRs and human patients stem from the absence of specific etiologies, an increase in total peripheral resistance, and a similar response to drug treatment [12].

The first parameters we evaluated were the diuretic and renoprotective effects of *B. portulacoides*. Based on urine production and the renal elimination of electrolytes, we found that SHRs that were treated only with vehicle exhibited a significant decrease in urine production, associated with a lower excretion of sodium and chloride. A reduction of renal function is a common clinical condition in hypertensive patients, which may be associated with the endothelial dysfunction of renal arterioles [13]. Acute and prolonged treatment with AEPB (300 mg/kg) and HCTZ reversed these changes, maintaining urinary volume and electrolyte elimi-

nation at levels that were similar to normotensive animals. Furthermore, the treatments did not affect the levels of different serum markers of renal and liver function, demonstrating a low potential for nephrotoxicity or hepatotoxicity. An advantage of AEPB over HCTZ is reflected in the excretion of potassium. HCTZ induced a significant elimination of this ion, whereas AEPB exerted a significant potassium-sparing effect that may prevent the occurrence of cramps and arrhythmias [14].

Based on the effects we observed in the kidneys, we further investigated the molecular mechanisms that could be involved in the diuretic activity of AEPB. Several molecular pathways are known to be involved in the diuretic effects of natural products, including the RAAS, prostaglandin/cAMP, and NO-cGMP-K⁺ channel pathways [15]. The analysis of the effects of the cyclooxygenase inhibitor INDO and aldosterone levels and plasma ACE activity excluded the possibility of participation of the prostaglandin/cAMP pathway and RAAS in AEPB-induced renal effects. However, pretreatment with an NO synthase blocker (L-NAME), an sGC inhibitor (MB), and nonselective potassium channel blocker (TEA) prevented the diuretic response to AEPB treatment, suggesting direct participation of the NO-cGMP-K⁺ channel pathway. As expected, the diuretic effects of HCTZ depended on the renal release of prostaglandins and modulation of potassium channels [16], in which pretreatment with INDO and TEA prevented the diuretic response.

Oxidative stress can be one of the origins or consequences of hypertension [17]. High BP and oxidative stress can lead to endo-

► **Table 2** Effects of acute oral treatment with AEPB (300 mg/kg) and HCTZ in the absence and presence of indomethacin (INDO), L-NG-nitro arginine methyl ester (L-NAME), methylene blue (MB), and tetraethylammonium (TEA) on urinary volume and sodium, potassium, and chloride levels.

Treatments	Vehicle	INDO	L-NAME	MB	TEA
Naïve					
Urinary volume (ml/100 g)	6.05 ± 0.33	5.55 ± 0.42	5.87 ± 0.39	6.11 ± 0.55	5.99 ± 0.47
El _{Na} (μEq/min/100 g)	2.88 ± 0.23	2.51 ± 0.33	2.66 ± 0.31	2.71 ± 0.32	2.59 ± 0.29
El _K (μEq/min/100 g)	1.38 ± 0.19	1.24 ± 0.21	1.31 ± 0.18	1.29 ± 0.17	1.34 ± 0.23
El _{Cl} (μEq/min/100 g)	2.08 ± 0.37	2.22 ± 0.32	2.18 ± 0.29	2.02 ± 0.30	2.12 ± 0.33
NC					
Urinary volume (ml/100 g)	2.97 ± 0.17 ^a	2.44 ± 0.32 ^a	2.56 ± 0.28 ^a	2.77 ± 0.21 ^a	2.61 ± 0.26 ^a
El _{Na} (μEq/min/100 g)	1.14 ± 0.13 ^a	1.02 ± 0.15 ^a	1.09 ± 0.16 ^a	1.11 ± 0.17 ^a	1.17 ± 0.15 ^a
El _K (μEq/min/100 g)	1.18 ± 0.15	1.25 ± 0.18	1.22 ± 0.16	1.15 ± 0.19	1.11 ± 0.17
El _{Cl} (μEq/min/100 g)	0.66 ± 0.18 ^a	0.44 ± 0.12 ^a	0.57 ± 0.14 ^a	0.52 ± 0.16 ^a	0.48 ± 0.19 ^a
AEPB 300 mg/kg					
Urinary volume (ml/100 g)	5.33 ± 0.66	5.21 ± 0.44	2.38 ± 0.29 ^a	2.26 ± 0.18 ^a	2.19 ± 0.22 ^a
El _{Na} (μEq/min/100 g)	2.42 ± 0.21 ^b	2.56 ± 0.31 ^b	1.10 ± 0.18 ^a	1.02 ± 0.16 ^a	1.10 ± 0.20 ^a
El _K (μEq/min/100 g)	1.32 ± 0.20	1.26 ± 0.25	1.19 ± 0.22	1.22 ± 0.19	1.28 ± 0.17
El _{Cl} (μEq/min/100 g)	1.77 ± 0.27 ^b	1.57 ± 0.21 ^b	0.52 ± 0.14 ^a	0.46 ± 0.18 ^a	0.51 ± 0.21 ^a
HCTZ 25 mg/kg					
Urinary volume (ml/100 g)	5.18 ± 0.61 ^b	2.39 ± 0.25 ^{a,c}	6.02 ± 0.77 ^{a,c}	5.55 ± 0.66 ^{a,c}	2.19 ± 0.21 ^a
El _{Na} (μEq/min/100 g)	2.58 ± 0.33 ^b	0.99 ± 0.21 ^{a,c}	2.44 ± 0.31 ^{a,c}	2.61 ± 0.29 ^{a,c}	1.12 ± 0.23 ^a
El _K (μEq/min/100 g)	3.44 ± 0.40 ^{a,c}	1.19 ± 0.18	3.34 ± 0.38 ^{a,c}	3.51 ± 0.31 ^{a,c}	1.22 ± 0.15
El _{Cl} (μEq/min/100 g)	1.88 ± 0.21 ^b	0.56 ± 0.15 ^{a,c}	1.66 ± 0.19 ^{a,c}	1.70 ± 0.23 ^{a,c}	0.50 ± 0.18 ^a

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. ^a denote $p < 0.05$ when compared to the naïve animals; ^b denotes $p < 0.05$ when compared to the NC-group; ^c denotes $p < 0.05$ when compared to the AEPB 300 mg/kg; AEPB: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Filipendula portulacaoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naïve: normotensive animals that received only the vehicle.

thelial dysfunction. The imbalance between the generation of reactive oxygen species and antioxidant defense systems represents a primary cause of endothelial dysfunction [18]. Endothelial dysfunction affects the way arterioles react to different chemical mediators, including a decrease in NO-mediated vasodilatation and an increase in the vasoconstrictor response to Phe and Ang II [19]. In the present study, animals in the NC group exhibited a significant increase in serum markers of protein and lipid oxidation, accompanied by a reduction of nitrite levels, an indirect marker of NO bioavailability. These effects, accompanied by an increase in pressure levels, resulted in significant renal endothelial dysfunction, characterized by lower ACh-mediated vasodilatation and an increase in the response to Phe and Ang II. The highest dose of AEPB can likely significantly activate the NO-cGMP-K⁺ channel pathway, increasing NO bioavailability and contributing to antioxidant activity. Furthermore, the activation of sGC by NO can increase cGMP levels and modulate the opening of potassium channels, causing vasodilatation and hypotension. Together, these ef-

fects can prevent renal endothelial dysfunction and reduce the severity and consequences of hypertensive disease.

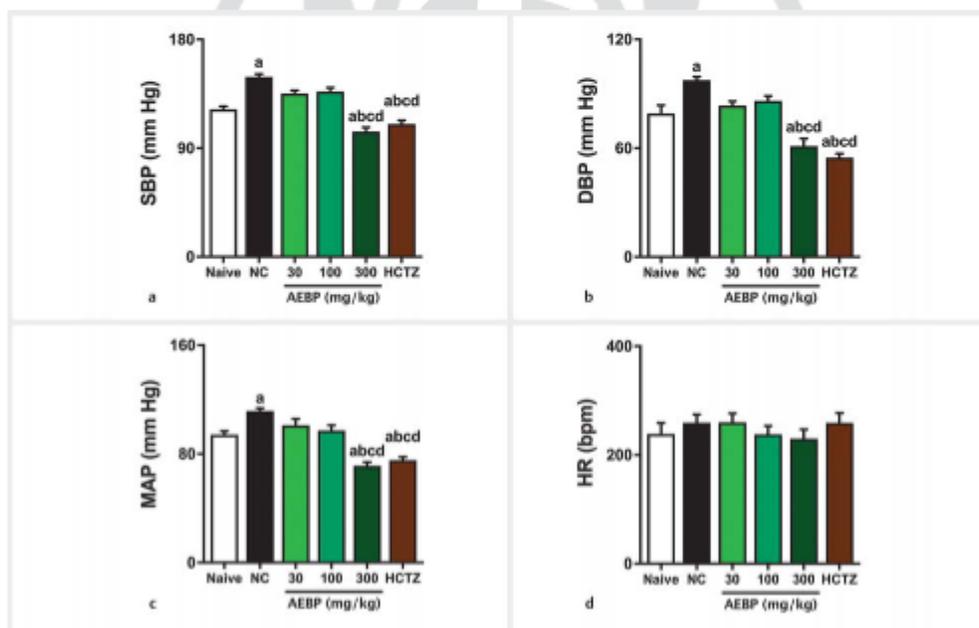
One consequence of hypertension is LVH. The LV is a primary target for hypertension end organ damage. LVH can lead to arrhythmias, such as atrial fibrillation, and ventricular arrhythmias, both of which are known risk factors for sudden cardiac death [20]. Although none of the experimental groups exhibited electrocardiographic alterations that were compatible with arrhythmias or heart failure, rats in the NC group exhibited a notable increase in the relative heart weight and LV WT. Long-term treatment with AEPB prevented these changes, maintaining the cardiac architecture that was similar to naïve animals.

Our study expands knowledge about the biological activities of *B. portulacaoides*, but we are unable to precisely identify the secondary metabolites that are responsible for the cardioprotective effect of AEPB. Ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry identified several compounds, including caffeic acid, ferulic acid, and several flavonoids. The available data

► **Table 3** Effects of prolonged oral treatment with AEBP (30, 100, and 300 mg/kg) and hydrochlorothiazide (HCTZ) on electrocardiographic parameters.

Parameter	Naive	NC	AEBP (30 mg/kg)	AEBP (100 mg/kg)	AEBP (300 mg/kg)	HCTZ (25 mg/kg)
Segments (ms)						
P	22.30 ± 4.00	21.40 ± 4.12	21.0 ± 5.40	21.27 ± 3.74	20.30 ± 3.16	20.70 ± 4.32
PR	39.80 ± 5.79	34.90 ± 5.56	33.82 ± 5.13	36.0 ± 5.06	33.20 ± 6.52	34.70 ± 5.82
QRS	42.41 ± 6.42	40.40 ± 5.16	42.0 ± 4.79	42.09 ± 4.59	38.70 ± 6.40	40.20 ± 4.05
QT	75.61 ± 4.06	76.30 ± 5.41	79.64 ± 7.08	79.82 ± 4.77	79.80 ± 5.67	79.4 ± 8.61
QTc	159.22 ± 13.15	155.63 ± 12.19	159.41 ± 15.26	155.64 ± 11.26	159.65 ± 13.81	154.87 ± 14.10
Waves (mV)						
P	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.03
Q	-0.022 ± 0.014	-0.026 ± 0.019	-0.021 ± 0.011	-0.027 ± 0.011	-0.023 ± 0.016	-0.028 ± 0.010
R	0.302 ± 0.047	0.293 ± 0.059	0.334 ± 0.063	0.331 ± 0.067	0.317 ± 0.053	0.298 ± 0.066
S	-0.041 ± 0.010	-0.038 ± 0.012	-0.031 ± 0.009	-0.021 ± 0.011	-0.059 ± 0.012	-0.038 ± 0.010

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. AEBP: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Blutaparan portulacaoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naive: normotensive animals that received only the vehicle



► **Fig. 2** Effects of prolonged oral treatment with AEBP and HCTZ on (a) systolic blood pressure (BP), (b) diastolic blood pressure (DBP), (c) mean arterial pressure (MAP), and (d) heart rate (HR) values. Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as the mean ± SEM of 10 animals per group. ^a*p* < 0.05 when compared to the naive animals, ^b*p* < 0.05 when compared to the NC group, ^c*p* < 0.05 when compared to the AEBP 30 mg/kg group, and ^d*p* < 0.05 when compared to the AEBP 100 mg/kg group. AEBP: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *B. portulacaoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; naive: normotensive animals that received only the vehicle.

► **Table 4** Effects of prolonged oral treatment with AEBP (30, 100, and 300 mg/kg) and hydrochlorothiazide (HCTZ) on biochemical parameters.

Parameter	Naive	NC	AEBP (30 mg/kg)	AEBP (100 mg/kg)	AEBP (300 mg/kg)	HCTZ (25 mg/kg)
Sodium (mmol/l)	102.01 ± 6.14	105.65 ± 6.02	100.21 ± 7.14	99.22 ± 6.65	102.3 ± 5.41	98.2 ± 6.23
Potassium (mmol/l)	5.77 ± 0.12	5.62 ± 0.18	5.65 ± 0.19	5.61 ± 0.13	5.77 ± 0.18	5.68 ± 0.16
Total protein (g/dl)	5.85 ± 0.68	6.15 ± 0.69	7.08 ± 0.86	5.92 ± 0.73	5.62 ± 0.62	6.54 ± 0.61
AST (U/l)	153.0 ± 32.01	174.6 ± 25.90	122.7 ± 38.72	118.2 ± 34.55	176.9 ± 26.28	160.9 ± 39.01
ALT (U/l)	87.25 ± 10.28	91.67 ± 15.52	71.10 ± 11.50	71.30 ± 13.52	72.33 ± 16.90	81.22 ± 10.44
Creatinine (mg/dl)	0.62 ± 0.17	0.61 ± 0.12	0.59 ± 0.11	0.57 ± 0.13	0.58 ± 0.13	0.56 ± 0.15
Urea (mg/dl)	61.43 ± 8.08	65.55 ± 7.45	63.50 ± 9.95	65.87 ± 8.73	63.21 ± 8.13	64.54 ± 8.77
Nitrotyrosine (μmol/l)	0.013 ± 0.007	0.033 ± 0.009 ^a	0.027 ± 0.008 ^a	0.025 ± 0.005 ^a	0.015 ± 0.003 ^{bcd}	0.028 ± 0.006 ^a
Malondialdehyde (mmol/l)	9.52 ± 1.03	25.54 ± 3.57 ^a	21.24 ± 2.11 ^a	18.01 ± 1.55 ^a	10.66 ± 1.91 ^{bcd}	17.01 ± 1.04 ^a
Nitrite (μM)	109.77 ± 6.76	55.01 ± 6.11 ^a	67.43 ± 4.55 ^a	70.88 ± 8.55 ^a	113.88 ± 7.04 ^{bcd}	64.95 ± 7.34 ^a
Aldosterone (pg/ml)	131.2 ± 12.21	142.1 ± 13.34	135.3 ± 11.55	139.2 ± 11.99	140.5 ± 10.33	138.5 ± 12.99
ACE (nmol/min/ml)	82.3 ± 5.89	90.2 ± 6.12	92.5 ± 6.99	87.1 ± 5.55	89.3 ± 6.01	86.1 ± 5.13

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. ^a denote $p < 0.05$ when compared to the naive animals; ^b denotes $p < 0.05$ when compared to the NC-group; ^c denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 30 mg/kg; ^d denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 100 mg/kg; ^e denotes $p < 0.05$ when compared to the HCTZ 25 mg/kg; ACE: angiotensin-converting enzyme activity; ALT: alanine transaminase; AST: aspartate transaminase; AEBP: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Blutaparon portulacoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naive: normotensive animals that received only the vehicle

► **Table 5** Effects of prolonged oral treatment with AEBP (30, 100, and 300 mg/kg) and hydrochlorothiazide (HCTZ) on renal vascular reactivity.

Drug (dose)	Naive	NC	AEBP (30 mg/kg)	AEBP (100 mg/kg)	AEBP (300 mg/kg)	HCTZ (25 mg/kg)
Phe (nmol)						
0.3	4.55 ± 3.28	5.59 ± 1.85	6.55 ± 2.64	4.85 ± 2.36	3.48 ± 2.25	3.46 ± 2.34
1	12.02 ± 2.10	43.63 ± 2.64 ^a	44.66 ± 6.80 ^a	39.03 ± 7.08 ^a	10.18 ± 4.14 ^{bcd}	42.40 ± 3.29 ^a
3	22.25 ± 2.22	55.5 ± 1.49 ^a	45.79 ± 9.31 ^a	47.95 ± 6.05 ^a	21.53 ± 3.23 ^{bcd}	58.4 ± 8.55 ^a
Ang II (pmol)						
0.1	3.15 ± 1.88	2.83 ± 0.63	3.11 ± 1.19	5.11 ± 2.61	3.31 ± 1.09	3.06 ± 0.96
0.3	7.25 ± 1.55	28.49 ± 6.12 ^a	28.22 ± 9.16 ^a	26.74 ± 6.51 ^a	4.33 ± 2.29 ^{bce}	32.75 ± 9.09 ^a
1	13.52 ± 2.43	34.11 ± 9.36 ^a	27.43 ± 8.16 ^a	27.84 ± 7.26 ^a	13.28 ± 4.52 ^{bce}	34.42 ± 11.68 ^a
Ach (pmol)						
30	-15.15 ± 12.25	-8.25 ± 2.82 ^a	-6.17 ± 2.70 ^a	-7.10 ± 1.95 ^a	-16.66 ± 3.69 ^{bcd}	-4.01 ± 1.96 ^a
100	-18.86 ± 2.06	-9.25 ± 1.08 ^a	-8.82 ± 3.48 ^a	-9.65 ± 3.90 ^a	-18.82 ± 1.31 ^{bcd}	-14.01 ± 5.50
300	-28.06 ± 3.39	-16.84 ± 2.95 ^a	-14.57 ± 3.18 ^a	-12.09 ± 2.36 ^a	-31.43 ± 3.66 ^{bcd}	-18.20 ± 9.82
SNP (pmol)						
10	-3.32 ± 1.15	-4.19 ± 1.94	-3.04 ± 1.48	-5.88 ± 3.21	-4.11 ± 2.34	-5.76 ± 2.69
30	-11.23 ± 2.51	-13.22 ± 3.54	-12.70 ± 3.65	-14.68 ± 3.75	-12.84 ± 3.50	-11.44 ± 3.78
100	-12.78 ± 2.11	-15.91 ± 2.05	-13.80 ± 3.54	-14.44 ± 3.17	-15.60 ± 3.36	-13.30 ± 2.79

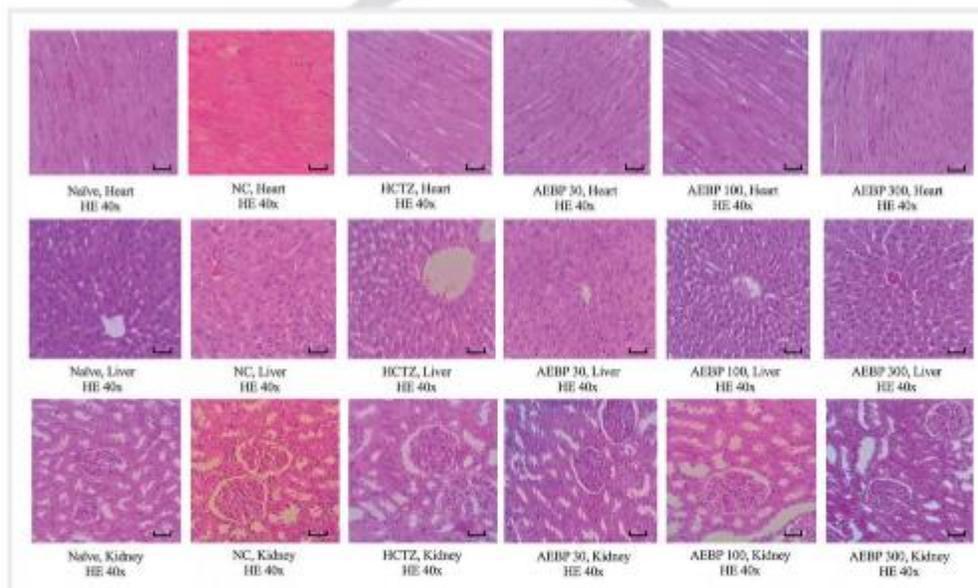
Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. ^a denote $p < 0.05$ when compared to the naive animals; ^b denotes $p < 0.05$ when compared to the NC-group; ^c denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 30 mg/kg; ^d denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 100 mg/kg; ^e denotes $p < 0.05$ when compared to the HCTZ 25 mg/kg; AEBP: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Blutaparon portulacoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naive: normotensive animals that received only the vehicle

► **Table 6** Effects of prolonged oral treatment with AEBP (30, 100, and 300 mg/kg) and hydrochlorothiazide (HCTZ) on relative organ weight and cardiac morphometry

Parameter	Naive	NC	AEBP (30 mg/kg)	AEBP (100 mg/kg)	AEBP (300 mg/kg)	HCTZ (25 mg/kg)
Heart (%)	0.22 ± 0.02	0.39 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.02 ^a	0.26 ± 0.02 ^{bcd}	0.27 ± 0.02 ^{bd}
Right kidney (%)	0.35 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.34 ± 0.004
Liver (%)	3.50 ± 0.36	3.55 ± 0.21	3.63 ± 0.29	3.61 ± 0.32	3.74 ± 0.34	3.57 ± 0.39
IV wall thickness (mm)	1.229 ± 0.237	1.648 ± 0.265 ^a	1.607 ± 0.150 ^a	1.620 ± 0.201 ^a	1.457 ± 0.294	1.335 ± 0.271
RV wall thickness (mm)	0.830 ± 0.175	1.052 ± 0.247	1.023 ± 0.283	1.111 ± 0.282	1.079 ± 0.334	1.016 ± 0.189

Statistical analyses were performed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. Values are expressed as mean ± SEM (standard error of the mean) of 10 animals per group. ^a denote $p < 0.05$ when compared to the naive animals; ^b denotes $p < 0.05$ when compared to the NC-group; ^c denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 30 mg/kg; ^d denotes $p < 0.05$ when compared to the AEBP 100 mg/kg; AEBP: hypertensive rats that received three different doses of the extract of *Blutapuron portulacoides*; HCTZ: hypertensive animals that received daily doses of hydrochlorothiazide; IV: left ventricle; NC: hypertensive animals that received daily doses of the vehicle; Naive: normotensive animals that received only the vehicle; RV: Right ventricle

Electronic reprint for personal use



► **Fig. 3** Representative cross-sections of the liver, heart, and kidney in the naive, NC, HCTZ, and AEBP (30, 100, 300 mg/kg) groups. Naive: normotensive animals treated with vehicle (water); NC: hypertensive animals treated with vehicle (water); HCTZ: hypertensive animals treated with hydrochlorothiazide (25 mg/kg); AEBP: hypertensive animals treated with the aqueous extract of *B. portulacoides* (30, 100, and 300 mg/kg). H&E: hematoxylin and eosin stain; scale bar: 30 µm.

point to important reno- and cardioprotective effects of these compounds [15, 21–23], suggesting their direct participation in cardiorenal protective effects. Although the hypothesis of a single pharmacologically active compound is interesting, we believe that the beneficial effects of AEPB are attributable to coordinated and synergistic actions of several molecules. Future studies should investigate whether the cardioprotective effects of AEPB can be reproduced by the administration of a single compound or specific

combinations of compounds and the concomitant administration of HCTZ and other classic antihypertensive drugs.

Overall, the present data suggest that 300 mg/kg AEPB has important diuretic and cardioprotective effects after prolonged administration in SHR. These effects appear to be attributable to activation of the NO-cGMP-K⁺ channel pathway and associated with a systemic antioxidant response.

Materials and Methods

Drugs and solvents

We used heparin (Hipolabor), ketamine hydrochloride (Syntec), and xylazine hydrochloride (Syntec). ACh, Ang II, dextrose, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), HCTZ, INDO, L-NAME, MB, Phe, SNP, TEA, sodium chloride (NaCl), potassium chloride (KCl), calcium chloride (CaCl₂), magnesium sulfate (MgSO₄), sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃), and potassium dihydrogen phosphate (KH₂PO₄) were purchased from Sigma-Aldrich. Acetonitrile, methanol, and formic acid were purchased from J. T. Baker.

Plant material, extraction, and phytochemical analysis

The whole plant of *B. portulacoides* was collected in its natural habitat in Ubatuba, São Paulo, Brazil, in January 2015 and was identified by Prof. J. C. de Siqueira (Pontifical Catholic University of Rio de Janeiro). The plant was cultivated in the Institute of Biology/University of Campinas (UNICAMP; Campinas, São Paulo, Brazil). A voucher specimen (SPFR-2962) was deposited in the herbarium of the Faculty of Philosophy, Sciences, and Letters of Ribeirão Preto, University of São Paulo (FFCLRP/USP). The registration number in the National System for the Management of Genetic Heritage (SisGen) is A86487C. The plant material (200 g) was dried at 40 °C for 72 h, powdered, and extracted by maceration at room temperature for 24 h, followed by 30 min of exposure to an ultrasound bath with purified water in a plant powder/solvent proportion of 1:2 (w/v). The bath was fixed at 500 W and 53 kHz. The resulting biomass was filtered and lyophilized, yielding 40 g of AEBP (20% yield). The chemical composition of AEBP was analyzed by ESI-MS. For ESI-MS analyses, the extract (1 mg/mL) was diluted in a solution that contained 50% (v/v) chromatographic grade methanol, 50% (v/v) deionized water, and 0.5% of ammonium hydroxide (Merck). The fingerprinting ESI-MS analyses were performed using ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry equipment (model ACQUITY TQD; Waters), operating in positive (30 V) and negative (30 V) ion modes. The general conditions included a source temperature of 100 °C, capillary voltage of 3.0 kV, and cone voltage of 30 V. ESI-MS was performed by direct infusion using a syringe pump at a flow rate of 10 µL/min. The compounds were identified by comparing their ESI-MS/MS fragmentation spectra to fragmentation spectra of authentic standard samples and data from the literature [6,24–27].

Animals

Ten female Wistar rats (84 days old), 80 male SHRs, and 16 male Wistar-Kyoto rats (180 days of age) were obtained from the central vivarium of the Federal University of Grande Dourados (UFGD), Brazil. All of the animals were kept in a temperature- and light-controlled room (22 ± 2 °C; 12-h/12-h light/dark cycle) with *ad libitum* access to food and water. All of the animal procedures were previously approved by the Animal Use Ethics Committee of UFGD (September 1, 2020; protocol 35–2019/1) and were in accordance with the Brazilian Legal Framework on Scientific Animal Use.

Acute toxicity

Acute toxicity was assessed according to the methodologies described previously [28]. Female Wistar rats (*n* = 5/group) were randomly distributed into two experimental groups, weighed, and treated orally with a single dose of AEPB (2000 mg/kg) or vehicle (filtered water, 0.2 mL/100 g). Mortality rate, food and water intake, body weight, and clinical signs of toxicity were observed for 14 days. At the end of the experimental period, the heart, kidneys, liver, lungs, spleen, and uterus were removed and weighed, and relative organ weights were calculated. Some tissue samples also underwent histopathological analysis.

Cardioprotective evaluation

Prolonged diuretic activity

The diuretic activity was evaluated in accordance with Gasparotto Junior et al. [29], with some adaptations. Fifty male SHRs and ten male Wistar-Kyoto rats were randomly divided into the following six experimental groups (*n* = 10/group): NC (SHRs treated with filtered water, 0.2 mL/100 g), AEPB 30 (SHRs treated with 30 mg/kg AEPB), AEPB 100 (SHRs treated with 100 mg/kg AEPB), AEPB 300 (SHRs treated with 300 mg/kg AEPB), HCTZ (SHRs treated with 25 mg/kg hydrochlorothiazide), and naive (Wistar-Kyoto rats treated with filtered water, 0.2 mL/100 g). The animals were treated orally, once daily, for 28 days.

Before the experiments, all rats orally received 5 mL/100 g of 0.9% NaCl to impose controlled water and salt load. Each animal was then placed in an individual metabolic cage. Urine samples were collected over a 24-h period on days 1, 14, and 28. Urinary density and pH were determined by a handheld refractometer (NO107; Nova Instruments) and digital pH meter (Q400MT; Quimis Instruments), respectively. Urinary sodium, potassium, chloride, creatinine, and urea levels were quantified in an automated biochemical analyzer (Cobas Integra 400 plus; Roche).

Mechanisms of diuretic activity

After orally receiving isotonic saline (0.9% NaCl, 5 mL/100 g), different groups of SHRs (*n* = 6) were orally treated with vehicle (NC group; filtered water, 5 mL/kg, given 1 h before the experiments), INDO (5 mg/kg, given 1 h before the experiments), L-NAME (60 mg/kg, given 1 h before the experiments), TEA (10 mg/kg, given 1 h before the experiments), or MB (100 mg/kg, given 1 h before the experiments), followed by the oral administration of AEBP (300 mg/kg), HCTZ (25 mg/kg), or vehicle (NC group; filtered water, 0.2 mL/100 g). The naive group consisted of Wistar-Kyoto rats that received no pretreatment and were treated with vehicle alone. Urine output was measured 24 h after the treatments. We also measured sodium, potassium, and chloride levels in total urine.

Electrocardiography

At the end of the experimental period, on the morning of day 29, all rats were intramuscularly anesthetized with 100 mg/kg ketamine + 20 mg/kg xylazine. Four electrodes were positioned on the animal's two forelimbs and two hindlimbs. Electrocardiographic waves were recorded for 5 min using a 12-lead ECG recorder (WinCardio; Micromed). PR, QRS, QT, and QTc segments (in ms) and P, Q, R, and S wave amplitudes (in mV) were recorded.

Blood pressure

After ECG recording, all rats were subcutaneously treated with heparin (30 IU). The left carotid artery was isolated, cannulated, and connected to a pressure transducer that was coupled to a PowerLab recording system (Chart, v 7.1; both from ADI Instruments). DBP, SBP, MAP, and HR were recorded for 20 min.

Biochemical analysis

After BP measurements, blood samples (~5 mL) were collected from the cannulated carotid artery. Serum was obtained by centrifugation at 1500 × g for 5 min. Potassium, sodium, total protein, ALT, AST, creatinine, and urea levels were quantified by an automatic biochemical analyzer (Roche Cobas Integra 400 plus). NT and aldosterone levels were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (BD Biosciences). Plasma nitrite concentrations were enzymatically determined according to reducing nitrate based on Schmidt et al. [30]. Serum ACE activity was determined by indirect fluorimetry according to Santos et al. [31]. Finally, MDA levels were measured using a thiobarbituric acid reactive substances assay kit (Cayman Chemical).

Renal vascular reactivity

After the BP measurements, the left kidneys were isolated, cannulated, and prepared according to McGregor [32], with some adaptations. The preparations were coupled in a perfusion system and continuously perfused with PSS (119 mM NaCl, 4.7 mM KCl, 2.4 mM CaCl₂, 1.2 mM MgSO₄, 25.0 mM NaHCO₃, 1.2 mM KH₂PO₄, 11.1 mM dextrose, and 0.03 mM EDTA) and gassed with 95% O₂/5% CO₂ at 37°C. Changes in perfusion pressure (in mmHg) were recorded using the PowerLab recording system (Chart, v 7.1; both from ADI Instruments). To confirm tissue integrity, a bolus injection of KCl (120 mmol) was administered. Different doses of Phe (0.3, 1, and 3 nmol, 10–30 µL) and Ang II (0.1, 0.3, and 1 pmol, 10–30 µL) were then administered in the preparations. After a washout period of 30 min, the preparations were perfused with PSS plus Phe 3 µM. After stabilization of the contractile process, vascular reactivity to ACh (30, 100, and 300 pmol) and SNP (10, 30, and 100 pmol) was evaluated.

Relative organ weight, histopathology, and heart morphometry

After euthanasia, the heart, right kidney, and liver were removed, cleaned, and weighed. The RW% was determined as RW% = absolute organ weight × 100/body weight. The organ fragments were then fixed in 10% buffered formalin, cleaved, dehydrated, diaphanized, and embedded in paraffin. The tissues were then sectioned (4 µm) and stained with HE for evaluation by light microscopy (40× magnification). The thickness of the RV and the LV was also measured. The area of the microscope was adjusted using an ocular micrometer with a 100× objective to determine the size of the field per µm². All images were obtained and evaluated using Motic Images Plus 2.0 software.

Statistical analysis

The statistical analyses were performed using one-way or two-way ANOVA followed by Tukey's test. The results are expressed

as the mean + SEM of 5–10 animals per group. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Contributors' Statement

Conceptualization, funding acquisition, and project administration: ACJ. Plant material, extraction, and phytochemical analysis: CALK, MJS, and MD. Acute toxicity: CSF and RACP. Cardioprotective evaluation: PRTL, BRL, KSL, AAMM, MD, and ACS. Writing – original draft: PRTL. Supervision and writing – review and editing: ACJ and KGTM.

Acknowledgements

This research was funded by Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT, Brazil; no. 59/300.046/2015 and 71/700.135/2018) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brazil; no. 449464/2014-8 and 407685/2018-9). The authors are grateful to CAPES (Finance Code 001), FAPESP (process numbers 2006/06079-4, 2012/09101-1, 2015/03726-8, and 2017/03598-5), FAPEX-UNICAMP and CNPq (process numbers #311166/2016-4, #304266/2017-5, #427859/2018-2, and #309411/2019-01 for scholarships).

Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- [1] Brouwers S, Sudano I, Kokubo Y, Sulaica EM. Arterial hypertension. *Lancet* 2021; 398: 249–261
- [2] Picon RV, Fuchs FD, Moreira LB, Riegel G, Fuchs SC. Trends in prevalence of hypertension in Brazil: A systematic review with meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e48255
- [3] Ribeiro ALP, Duncan BB, Brant LCC, Lotufo PA, Mill JG, Barreto SM. Cardiovascular health in Brazil: Trends and perspectives. *Circulation* 2016; 133: 422–433
- [4] Dutra RC, Campos MM, Santos AR, Calixto JB. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacol Res* 2016; 112: 29
- [5] Falzon CC, Balabanova A. Phytotherapy: An introduction to herbal medicine. *Prim Care* 2017; 44: 217–227
- [6] Marchioretto MS, de Azevedo F, Josende MVF, Schnorr DM. Biogeografia da família Amaranthaceae no Rio Grande do Sul. *Pesquisas Botânicas* 2008; 59: 171–190
- [7] Salvador MJ, Ferreira EO, Pral EM, Alfieri SC, Albuquerque S, Ito IV, Dias DA. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). *Phytomedicine* 2002; 6: 566–571
- [8] Kassuya RM, Radai JAS, Macorini LFB, Nunes VK, Salvador MJ, Leite PRT, Oliveira RJ, Croda J, Arena AC, Kassuya CAL. *Blutaparon portulacoides* ethanolic extract reduced IL-1β and inflammatory parameters induced by the *Mycobacterium* complex and carrageenan in mice. *Inflammopharmacol* 2021; 29: 439–450
- [9] Lipnick RI, Cotruvo JA, Hill RN, Bruce RD, Stitzel KA, Walker AP, Chu I, Goddard M, Segal I, Springer JA, Myers RC. Comparison of the up-and-down, conventional LD₅₀ and fixed-dose acute toxicity procedures. *Food Chem Toxicol* 1995; 33: 223–231
- [10] Chan V, Fenning A, Levick SP, Loch D, Chanduri P, Iyer A, Teo YL, Hoey A, Wilson K, Burstow D, Brown L. Cardiovascular changes during maturation

- tion and ageing in male and female spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2011; 57: 469–748
- [11] Hultström M. Development of structural kidney damage in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2012; 30: 1087–1091
- [12] Marche P, Herembert T, Zhu DL. Molecular mechanisms of vascular hypertrophy in the spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 1995; 22: S114–S116
- [13] Saxena T, Ali AO, Saxena M. Pathophysiology of essential hypertension: an update. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2018; 16: 879–887
- [14] Cooney D, Milfred-LaForest S, Rahman M. Diuretics for hypertension: Hydrochlorothiazide or chlorthalidone? *Cleve Clin J Med* 2015; 82: 527–533
- [15] Liverso FA, Menetrier JV, Lourenco ELB, Junior AG. Cellular and molecular mechanisms of diuretic plants: An overview. *Curr Pharm Des* 2017; 23: 1247–1252
- [16] Jackson EK. Drugs Affecting Renal and Cardiovascular Function. In: Hardman JC, Gilman AG, Limbird LE, editors. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9th ed. New York: Pergamon Press; 1996: 685–713
- [17] Sinha N, Dabla PK. Oxidative stress and antioxidants in hypertension—a current review. *Curr Hypertens Rev* 2015; 11: 132–142
- [18] Incalza MA, D'Orta R, Naticicchio A, Perrini S, Laviola L, Giorgino F. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascu Pharmacol* 2018; 100: 1–19
- [19] Konukoglu D, Uzun H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. *Adv Exp Med Biol* 2017; 956: 511–540
- [20] Yıldız M, Oktay AA, Stewart MH, Milani RV, Ventura HD, Lavin CJ. Left ventricular hypertrophy and hypertension. *Prog Cardiovasc Dis* 2020; 63: 10–21
- [21] Jiang RW, Lau KM, Hon PM, Mak TC, Woo KS, Fung KP. Chemistry and biological activities of caffeic acid derivatives from *Salvia miltiorrhiza*. *Curr Med Chem* 2005; 12: 237–246
- [22] Alam MA. Anti-hypertensive effect of cereal antioxidant ferulic acid and its mechanism of action. *Front Nutr* 2019; 6: 121
- [23] Maaliki D, Shaito AA, Pintus G, El-Yazbi A, Eid AH. Flavonoids in hypertension: A brief review of the underlying mechanisms. *Curr Opin Pharmacol* 2019; 45: 57–65
- [24] Ferreira FO, Dias DA. A methylenedioxyflavonol from aerial parts of *Blutaparou portulacoides*. *Phytochem* 2000; 53: 145–147
- [25] Oliveira DBD, de Almeida AP, Simões GLBA, Auvin C, Kaiser CR, Costa SS. First isolation of a symmetrical glycosylated methylene bis flavonoid. *Planta Med* 2003; 69: 382–384
- [26] Ferreres F, Gil-Izquierdo A, Valentão P, Andrade PB. Structural characterization of phenolics and betacyanins in *Gomphrena globosa* by high-performance liquid chromatography-diode array detection/electrospray ionization multi-stage mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2011; 25: 3441–3446
- [27] Salvador MJ, Andreazza NI, Pascoal ACRF, Pereira PS, França SC, Zucchi OLAD, Dias DA. Bioactive Chemical Constituents and Biotechnological Production of Secondary Metabolites in Amaranthaceae Plants, Gomphreneae Tribe. In: Orhan IE, ed. *Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites*. Sharjah: Bentham Science Publishers; 2012: 124–158
- [28] Palozzi RAC, Lorençone B, Guarnier LP, Romão PVM, Marques AAM, Hulsmeier APCR, Lourenço ELB, Tolouei SEI, da Silva GN, Curi TZ, Passoni MT, Dalsenter PR, de Araújo FHS, Oesterreich SA, Souza RIC, dos Santos AC, de Castilho PF, de Oliveira KMP, Nocchi SR, Silva DB, Gasparotto Junior A. From general toxicology to DNA disruption: A safety assessment of *Plinia coulflova* (Mart.) Kausel. *J Ethnopharmacol* 2020; 258: 112916
- [29] Gasparotto Junior A, Boffo MA, Lourenço ELB, Stefanello MEA, Kassuya CAI, Marques MCA. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. *J Ethnopharmacol* 2009; 122: 517–522
- [30] Schmidt HH, Wilke P, Evers B, Böhme E. Enzymatic formation of nitrogen oxides from L-arginine in bovine brain cytosol. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 165: 284–291
- [31] Santos RA, Krieger EM, Greene IJ. An improved fluorometric assay of rat serum and plasma converting enzyme. *Hypertension* 1985; 7: 244–252
- [32] McGregor DD. The effect of sympathetic nerve stimulation on vasoconstrictor responses in perfused mesenteric blood vessels of the rat. *J Physiol* 1965; 177: 21–30

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. F. et al. Eventos cardiovasculares: um efeito de classe dos inibidores de COX-2. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v.85, n.3, p.222-229, 2005.

AHMAD, A et al. The role of the endogenous antioxidant enzymes and malondialdehyde in essential hypertension. **J Clin Diagn Res**. 2013 Jun;7(6):987-90.

BARRETO, R. L. et al. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Revista Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1046-1054, ago. 2005.

BARROSO, W. K. S. et al. Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial - 2020. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**. 2021 143p.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: Efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. **Arquivos Brasileiro de Cardiologia**, v.94, n.4, p.556-563, 2010.

BELUQUE, T. Efeitos da inibição da cox-2 no sistema cardiovascular de cães. 2014. 19 p. Trabalho Científico (Graduação) – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, 2014.

BORGES, M. et al. Função renal, hepática e cardíaca de cães hípidos sob terapia prolongada com celecoxibe. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.10, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p.

BRASIL. Ministério da Economia. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE. Diretoria de Pesquisas. Coordenação de Trabalho e Rendimento. **Pesquisa nacional de saúde: 2019: percepção do estado de saúde, estilos de vida, doenças crônicas e saúde bucal: Brasil e grandes regiões / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento.** - Rio de Janeiro: IBGE, 2020. 113p.

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

CASEY, D. E. et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. **Journal American College of Cardiology**, v. 71, p. 127–248, 2018.

CHEN, C. et al. Vasorelaxant and antihypertensive effects of Tianshu Capsule on rats: An in vitro and in vivo approach. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 2019.

Cuzzocrea S, Salvemini D. Molecular mechanisms involved in the reciprocal regulation of cyclooxygenase and nitric oxide synthase enzymes. **Kidney International**. 2007 Feb;71(4):290-7.

COELHO, F. C. et al. Traditional Plants Used by Remaining Healers from the Region of Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Religion and Health**, v. 58, n. 2, p. 572–588, 9 abr. 2019.

DE PAULA VASCONCELOS, P. C. et al. Diuretic herb *Gomphrena celosioides* Mart.

(Amaranthaceae) promotes sustained arterial pressure reduction and protection from cardiac remodeling on rats with renovascular hypertension. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 126–133, 5 out. 2018.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**. 112(4), 29.

DUSSE, L. M. S. et al. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

FLORA FILHO, R.; ZILBERSTEIN, B. Óxido nítrico: o simples mensageiro percorrendo a complexidade. Metabolismo, síntese e funções. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 265-271, 2000.

GASPAROTTO, F. et al. Heart-Protective Effects of Echinodorus grandiflorus in Rabbits That Are Fed a High-cholesterol Diet. **Planta Medica**, v. 84, n. 17, p. 1271–1279, 21 nov. 2018.

KASSUYA, R. M et al. Blutaparon portulacoides ethanolic extract reduced IL-1 β and inflammatory parameters induced by the Mycobacterium complex and carrageenan in mice. **Inflammopharmacology**. 2021 Apr, 29, 439–450p.

KONUKOGLU, D.; UZUN, H. Endothelial Dysfunction and Hypertension. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. 2017;956:511-540.

KOPINCOVÁ, J. et al. L-NAME in the cardiovascular system - nitric oxide synthase activator? **Pharmacological Reports**. 2012;64(3):511-20.

MALACHIAS, M. et al. Capítulo 1 - Conceituação, Epidemiologia e Prevenção Primária.

Arquivos Brasileiros de Cardiologia, v. 107, n. 3, p. 1–6, 2016a.

MALACHIAS, M. et al. 7ª Diretriz Brasileira de Hipertensão Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 103p, 2016b.

MONCADA, S. et al. The L-arginine: nitric oxide pathway. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 17, n. 3, 1991.

PALOZI, R. A.C et al. Roles of Nitric Oxide and Prostaglandins in the Sustained Antihypertensive Effects of *Acanthospermum hispidum* DC. on Ovariectomized Rats with Renovascular Hypertension. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**. 2017;2017:2492483.

PEREIRA, I. C et al. Anti-inflammatory activity of *Blutaparon portulacoides* ethanolic extract against the inflammatory reaction induced by *Bothrops jararacussu* venom and isolated myotoxins BthTX-I and II. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. 2009, v. 15, n. 3, pp. 527-545.

QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. Funções biológicas do óxido nítrico. **Revista Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 584-590, 1999.

SALVADOR, M. J, et al. Bioactivity of crude extracts and some constituents of *Blutaparon portulacoides* (Amaranthaceae). **Phytomedicine**, 2002; 06:566.

SANDNER P. et al. Soluble Guanylate Cyclase Stimulators and Activators. In: Schmidt H.H.H.W., Ghezzi P., Cuadrado A. (eds) Reactive Oxygen Species. **Handbook of Experimental Pharmacology**, vol 264. Springer, Cham. 2019.

SAXENA, T.; ALI, A.O.; SAXENA, M. Pathophysiology of essential hypertension: an update. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**. 2018 Dec;16(12):879-887.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**, 7ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2017. Tradução de: Human physiology: an integrated approach, 7th ed.

SIQUEIRA, J. C. Importância alimentícia e medicinal das Amaranthaceae do Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**. v.9, 5-22p, 1987.

SIQUEIRA, J. C. DE.; GUIMARÃES, E. F. Amaranthaceae do Rio de Janeiro. I.: o gênero *Althernanthera* Forsk. *Rodriguesia*, Rio de Janeiro, 36 (58), 21-40, 1984.

SOBEY, C. G. Potassium Channel Function in Vascular Disease. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, p. 28–38, 2001.

SORENSEN, C. M. et al. Closure of multiple types of K⁺ channels is necessary to induce changes in renal vascular resistance in vivo in rats. **Pflugers Archiv : European Journal of Physiology**, n. 462, p. 655–667, 2011.

TAVARES, T. I. A. Riscos e benefícios dos anti-inflamatórios não esteróides inibidores seletivos da ciclo-oxigenase 2. 2012. 61p. Monografia (Mestrado) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012.

TIRLONI, C. A. S. et al. Ethnopharmacological approaches to kidney disease-prospecting an indigenous species from Brazilian Pantanal. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 211, p. 47–57, 30 jan. 2018.

WANDERLEY, M. D. G. L. et al. Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo / Coordenação de

Maria das Graças Lapa Wanderley, George John Shepherd, Ana Maria Giulietti. – São Paulo : FAPESP: HUCITEC, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Prevention of Cardiovascular Disease Pocket Guidelines for Assessment and Management of Cardiovascular Risk.** 2007, 20p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **A global brief on hypertension | Silent killer, global public health crisis.** v.1, 40p, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Hearts: technical package for cardiovascular disease management in primary health care.** v.1, 76p, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Hypertension.** 2021. Disponível em:

ANEXOS

Anexo 1. Aprovação do projeto de pesquisa na Comissão de Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde – CEP/FCS/UFGD.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

RESOLUÇÃO Nº 288, DE 27 DE SETEMBRO DE 2019

O Conselho Diretor da Faculdade de Ciências da Saúde, da Fundação Universidade Federal da Grande Dourados, no uso de suas atribuições legais, **RESOLVE;**

Manifestar-se favoravelmente aos Pareceres da Comissão de Pesquisa, da Faculdade de Ciências da Saúde, conforme abaixo:

- **PARECER Nº 117/2019 Comissão de Pesquisa da FCS** – favorável à proposta de projeto de pesquisa intitulada "Investigação etnofarmacológica de *Piper amalago* L. (Piperaceae).", coordenado por **Arquimedes Gasparotto Junior**;
- **PARECER Nº 119/2019 Comissão de Pesquisa da FCS** – favorável à proposta de projeto de pesquisa intitulada "Avaliação e acompanhamento de indivíduos idosos institucionalizados no Lar da Velhice Desamparada de Dourados averiguando a relação densitometria óssea e frequência de quedas e fraturas", coordenado por **Pablo Christiano Barboza Lollo**;
- **PARECER Nº 122/2019 Comissão de Pesquisa da FCS** – favorável à Proposta de Projeto de Pesquisa intitulado "Caracterização físico-química, antioxidante e metagenômica de Kombucha obtido a partir de chá verde e seus efeitos *in vivo*", coordenado por **Pablo Christiano Barboza Lollo**;
- **PARECER Nº 124/2019 Comissão de Pesquisa da FCS** – favorável à Proposta de Projeto de Pesquisa intitulado "Efeito do extrato hidroetanólico das folhas de *Camponesia xanthocarpa* em camundongos Swiss em modelo de obesidade e Esteatose Hepática induzida por dieta hiperlipídica", coordenado por **Cândida Aparecida Leite Kassuya**;
- **PARECER Nº 125/2019 comissão de pesquisa da fcs** – favorável à proposta de projeto de pesquisa intitulado "Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae)", coordenado por **Arquimedes Gasparotto Júnior**;

Profª. Drª. Silvia Aparecida Oesterreich
Presidente do Conselho Diretor da Faculdade de Ciências da Saúde/UFGD

Anexo 2 – Aprovação do projeto de pesquisa pelo Comissão de Ética no Uso de Animais–CEUA/UFGD.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Dourados-MS, 01 de Setembro de 2020.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **“Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae) em ratos espontaneamente hipertensos”**, registrada sob o protocolo de nº 35/2019, sob a responsabilidade de *Arquimedes Gasparotto Junior* – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 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 da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFGD) da Universidade Federal da Grande Dourados, em reunião de 08/11/2019, passou a ser nomeado **“Investigação etnofarmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais da *Blutaporan portulacoides* em ratos espontaneamente hipertensivos”**, tendo como nº de protocolo **35/2019-1**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/06/2020 a 28/02/2021
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus</i> – Wistar e SHR
Nº de animais	55 – 50 SHR e 5 Wistar
Peso/idade	90 dias – Wistar e 180 dias – SHR
Sexo	5 fêmeas Wistar e 50 machos SHR
Origem	Biotério Central da UFGD

Melissa Negrão Sepulvida

Melissa Negrão Sepulvida
Coordenadora CEUA

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFGD – Rua João Rosa Góes, 1761 – Vila Progresso.
Dourados/MS. E-mail: ceua@ufgd.edu.br

Anexo 3 – Artigos publicados

Inflammopharmacology
<https://doi.org/10.1007/s10787-020-00752-0>

Inflammopharmacology

ORIGINAL ARTICLE



Blutaparon portulacoides ethanolic extract reduced IL-1 β and inflammatory parameters induced by the *Mycobacterium complex* and carrageenan in mice

Roberto Mikio Kassuya¹ · Joyce Alencar Santos Radai¹ · Luis Fernando Benitez Macorini¹ · Viktor Krejci Nunes² · Marcos José Salvador² · Patricia Regina Terço Leite¹ · Rodrigo Juliano Oliveira³ · Júlio Croda^{3,4,5} · Arielle Cristina Arena⁶ · Cândida Aparecida Leite Kassuya¹

Received: 8 June 2020 / Accepted: 28 August 2020
 © Springer Nature Switzerland AG 2020

Abstract

Information on the health benefits of ethanolic extracts obtained from *Blutaparon portulacoides* stem (EEBP) hasn't been consistently described in the literature until the present moment. This study investigated the antimycobacterial, anti-inflammatory and toxicological effects of EEBP in models of inflammation/infection, as well as its chemical composition. Chemical analysis of EEBP by electrospray ionization–mass spectrometry/HPLC–MS/MS identified 3,5,3'-Trihydroxy-4'-methoxy-6,7-methylenedioxy-flavone, gomphrenol, ferulic, vanillic, and caffeic acids. The minimum inhibitory concentration of EEBP and isoniazid in the presence of *Mycobacterium tuberculosis* was 123.4 and 0.030 $\mu\text{g/ml}$, respectively. EEBP oral administration (p.o.) (300–1000 mg/kg) or dexamethasone subcutaneous injection (s.c.) (1 mg/kg) significantly inhibited leukocytes and proteins resulting from carrageenan-induced pleurisy in *Swiss* mice. In the BCG-induced pleurisy model, the oral treatments performed once a day for 7 days, with EEBP (30 and 100 mg/kg) and isoniazid (25 mg/kg), inhibited the increase in plasmatic IL-1 β levels and in pleural exudate from C57BL-6 mice, and reduced *M. tuberculosis* growth in organs (colony forming units assays). EEBP (30–300 mg/kg, p.o.) and dexamethasone (1 mg/s.c.) significantly prevented carrageenan-induced oedema and mechanical hyperalgesia in *Swiss* mice. The treatments (once a day for 22 days) with EEBP (30 mg/kg, p.o.) and dexamethasone (1 mg/s.c.) substantially inhibited oedema and mechanical- and cold-hyperalgesia at 11, 16 and 22 days after the administration of Freund's Complete Adjuvant in C57bL6 mice. No evidence of physio-pathologic was observed in *Wistar* rats acutely treated with EEBP (2000 mg/kg, p.o.). This study confirms the anti-inflammatory and antibiotic properties of EEBP, opening possibilities for the development of safe new drugs with dual anti-inflammatory/antimycobacterial activities which could be favorable from a pharmacoeconomic perspective.

Keywords Amaranthaceae · *Blutaparon portulacoides* · Inflammation · *Mycobacterium tuberculosis*

✉ Cândida Aparecida Leite Kassuya
candida2005@gmail.com

¹ Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, MS, Brazil

² Department of Plant Biology, PPG BTPB, and PPG BCE, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil

³ School of Medicine, Federal University of Mato Grosso Do Sul, Campo Grande, MS, Brazil

⁴ Department of Epidemiology of Microbial Diseases, Yale University School of Public Health, New Haven, United States of America

⁵ Oswaldo Cruz Foundation, Campo Grande, MS, Brazil

⁶ Department of Structural and Functional Biology, Institute of Biosciences of Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Botucatu, São Paulo State, Brazil

Research Article

Multiple Risk Factors for Heart Disease: A Challenge to the Ethnopharmacological Use of *Croton urucurana* Baill.

Priscila Megda João Job Zago ¹, Gustavo Ratti da Silva ², Eduarda Carolina Amaral ¹,
 Lorena Neris Barboza ¹, Fernanda de Abreu Braga ¹, Bethânia Rosa Lorençone ³,
 Aline Aparecida Macedo Marques ³, Karyne Garcia Tafarelo Moreno ³,
 Patrícia Regina Terço Leite ³, Alan de Almeida Veiga ⁴, Lauro Mera de Souza ⁴,
 Roosevelt Isaias Carvalho Souza ⁵, Ariany Carvalho dos Santos ⁵,
 João Tadeu Ribeiro-Paes ⁶, Arquimedes Gasparotto Junior ³,
 and Francislaine Aparecida dos Reis Lívero ⁷

¹Laboratory of Preclinical Research of Natural Products,
 Post-Graduate Program in Medicinal Plants and Phytotherapeutics in Basic Attention, Paranaense University, Umuarama,
 Paraná, Brazil

²Laboratory of Preclinical Research of Natural Products,
 Post-Graduate Program in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products, Paranaense University, Umuarama,
 Paraná, Brazil

³Laboratory of Cardiovascular Pharmacology, Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados,
 Mato Grosso do Sul, Brazil

⁴Institute of Research Pelé Pequeno Príncipe, Pequeno Príncipe Faculty, Curitiba, Paraná, Brazil

⁵Laboratory of Histology, Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados,
 Mato Grosso do Sul, Brazil

⁶Laboratory of Genetics and Cell Therapy, São Paulo State University, Assis, São Paulo, Brazil

⁷Laboratory of Preclinical Research of Natural Products,
 Post-Graduate Program in Medicinal Plants and Phytotherapeutics in Basic Attention,
 Post-Graduate Program in Animal Science with Emphasis on Bioactive Products, Paranaense University, Umuarama,
 Paraná, Brazil

Correspondence should be addressed to Francislaine Aparecida dos Reis Lívero; francislaine@prof.unipar.br

Received 4 September 2021; Revised 15 October 2021; Accepted 28 October 2021; Published 15 November 2021

Academic Editor: Daniel Kam Wah Mok

Copyright © 2021 Priscila Megda João Job Zago et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Croton urucurana Baill. is a native Brazilian tree, popularly known as “sangra-d’água” or “sanguê-de-dragão,” based on the red resinous sap of the trunk. Its use has been transmitted through generations based on popular tradition that attributes analgesic, anti-inflammatory, and cardioprotective properties to the tree. However, its cardioprotective effects have not yet been scientifically investigated. Thus, the present study investigated the pharmacological response to an ethanol-soluble fraction from the leaves of *C. urucurana* in Wistar rats exposed to smoking and dyslipidemia, two important cardiovascular risk factors. The extract was evaluated by high-performance liquid chromatography. Wistar rats received a 0.5% cholesterol-enriched diet and were exposed to cigarette smoke (9 cigarettes/day for 10 weeks). During the last 5 weeks, the animals were orally treated with vehicle (negative control group), *C. urucurana* extract (30, 100, and 300 mg/kg), or simvastatin (2.5 mg/kg) + enalapril (15 mg/kg). One group of rats that was not exposed to these risk factors was also evaluated (basal group). Electrocardiograms and systolic, diastolic, and mean blood pressure were measured. Blood was collected to measure total cholesterol, triglycerides, urea, and creatinine. The heart and kidneys were collected and processed for oxidative status and histopathological evaluation. The phytochemical analysis revealed different classes of flavonoids and condensed tannins. The model induced dyslipidemia and cardiac and renal oxidative stress and increased