

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

VINÍCIUS DE CARVALHO OLIVEIRA

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
FARMACOLÓGICA DO EXTRATO SECO E DA FRAÇÃO
ACETATO DE ETILA OBTIDO DAS FOLHAS DE *Mimosa*
*caesalpinifolia***

ALFENAS/MG

2023

VINÍCIUS DE CARVALHO OLIVEIRA

**PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO
EXTRATO SECO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDO DAS FOLHAS DE
*Mimosa caesalpinifolia***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva.
Co-orientação: Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva.

Professor colaborador do projeto:
Prof. Dr. Wagner Vilegas – Unesp/Campus Litoral Paulista
(São Vicente-SP).

ALFENAS/MG

2023

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Oliveira, Vinícius de Carvalho.

Perfil químico e avaliação da atividade farmacológica do extrato seco e da fração acetato de etila obtido das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* / Vinícius de Carvalho Oliveira. - Alfenas, MG, 2023.

80 f. : il. -

Orientador(a): Marcelo Aparecido da Silva.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Sansão-do-Campo. 2. Ácidos fenólicos. 3. Flavonoides. 4. Atividade anti-inflamatória. I. Silva, Marcelo Aparecido da, orient. II. Título.

VINÍCIUS DE CARVALHO OLIVEIRA**"PERFIL QUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO EXTRATO SECO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDO DAS FOLHAS DE *Mimosa caesalpinifolia*"**

O(A) Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas

Aprovado em: 29 de junho de 2023.

Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Geraldo Alves da Silva
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Marcelo José Dias Silva
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Marcelo Aparecido da Silva, Professor do Magistério Superior**, em 03/07/2023, às 08:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1024899** e o código CRC **F04F093B**.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus e a Nossa Senhora de Aparecida por estarem sempre comigo, me guiando, iluminando e me abençoando. Obrigado por me darem a fé e a força necessária para lutar e enfrentar todos as dificuldades.

Gratidão a Deus que me deu oportunidades, força de vontade, coragem para superar todos os desafios, determinação para não desanimar e por toda saúde (mesmo em época de pandemia) que foi me concedida.

Agradeço aos meus pais Ronaldo e Emília e ao meu irmão Elvis pela compreensão, carinho e pelo profundo apoio, me estimulando nos momentos mais difíceis. Obrigado por desejarem sempre o melhor para mim, pelo esforço que fizeram para que eu pudesse superar cada obstáculo em meu caminho e chegar aqui e, principalmente, pelo amor imenso que vocês têm por mim. A vocês minha família, sou eternamente grato por tudo o que sou, por tudo que consegui conquistar e pela felicidade que tenho.

A minha noiva Sabrinna, por todo amor, carinho, companheirismo, parceria, compreensão e apoio em tantos momentos difíceis desta caminhada. Obrigado por permanecer ao meu lado, mesmo sem carinhos rotineiros, sem a atenção devida e depois de tantos momentos de lazer perdidos. Obrigado por ser o meu presente de todo o dia, pelo seu sorriso e por saber me fazer feliz.

Minha gratidão especial ao professor Marcelo Aparecido da Silva, meu orientador e, sobretudo, um grande amigo, pela pessoa e profissional que é. Muito obrigado por sua dedicação, que o fez, por muitas vezes, deixar de lado seus momentos de descanso para me ajudar e orientar. E, principalmente, gratidão por sempre ter acreditado e depositado sua confiança em mim ao longo de todos esses anos de trabalho que se iniciaram ainda na graduação. Sem seu apoio, confiança e amizade, não somente neste trabalho, mas em todo o caminho percorrido até aqui, nada disso seria possível.

Ao professor Geraldo Alves da Silva, professor Marcelo José Dias Silva, ao Wallace Júnior de Oliveira e todos os colegas de laboratório minha gratidão pelo auxílio com o trabalho, pelos ensinamentos, pela atenção e por serem tão solícitos.

Aos meus amigos muito obrigado pelo apoio, pelas conversas, pela paciência e por me estimularem intelectual e emocionalmente ao longo destes anos.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Pelo apoio da Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG.

RESUMO

A *Mimosa caesalpiniiifolia* (Sansão-do-Campo) é uma espécie nativa da caatinga do nordeste brasileiro que vem sendo estudada sobre sua potencial atividade anti-inflamatória e antidepressivo. O presente trabalho foi realizado com o intuito de promover o perfil químico e avaliação da atividade farmacológica do extrato seco e da fração acetato de etila obtido das folhas secas de *Mimosa caesalpiniiifolia*. As folhas foram coletadas no município de Alfenas-MG e submetidas à secagem, seguido de divisão em moinho de facas. O preparo do extrato seco foi realizado pelo método de extração utilizando a percolação simples e a fração obtida por partição líquido-líquido. Parte da solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador seguido de um processo de secagem pela técnica de aspersão com adição de dióxido de sílcio coloidal. O extrato seco (33,33%) apresentou um maior rendimento em massa quando comparado ao rendimento da fração acetato de etila (19,67%). Os resultados químicos foram obtidos através da análise por HPLC-PDA acoplado a um espectrômetro de massas, possibilitando a verificação da presença de ácidos fenólicos, flavonoides agliconas e glicosídeos, além de taninos. O que corrobora com dados presentes na literatura para o gênero *Mimosa* sp. Alguns compostos tiveram sua estrutura determinada, onde foram identificados como catequina (m/z 288,97), cassiaocidentalina A (m/z 560,75) e procianidina B2 [(epi)catequina–(epi)catequina; m/z 576,83)]. A avaliação farmacológica *in vivo* foi conduzida com um total de 82 ratos machos da linhagem *Wistar* que passaram pela cirurgia de ligadura e perfuração cecal, para a indução do processo inflamatório. Após uma semana da cirurgia, estes animais foram tratados por 7 dias com o extrato seco e com a fração acetato de etila e submetidos a avaliação de testes comportamentais (campo aberto e nado forçado). Constatou-se que os animais que foram submetidos ao tratamento não apresentaram resultados estatisticamente significativos, demonstrando que a ação farmacológica avaliada no ensaio não teve destaque neste tipo de experimento. Os grupos que passaram por tratamento tiveram uma atividade locomotora agravada. Isso demonstra que o comportamento do tipo depressivo que foi acentuado após o tratamento observado no teste de nado forçado e campo aberto dificulta maiores conclusões sobre a atividade farmacológica avaliada. Sendo assim imprescindível a busca por novas hipóteses ou emprego de uma nova metodologia de estudo para avaliação. Os resultados encontrados com o estudo químico contribuíram para o conhecimento da espécie vegetal estudada. Por outro lado, há necessidade de mais estudos para fornecer uma melhor compreensão sobre a avaliação farmacológica da *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Palavras-chave: Sansão-do-Campo; ácidos fenólicos; flavonoides; atividade anti-inflamatória.

ABSTRACT

Mimosa caesalpiniiifolia (Sansão-do-Campo) is a native species of the caatinga in northeastern Brazil that has been studied for its potential anti-inflammatory and antidepressant activity. The present work was carried out with the aim of promoting the chemical profile and evaluation of the pharmacological activity of the dry extract and the ethyl acetate fraction obtained from the dry leaves of *Mimosa caesalpiniiifolia*. The leaves were collected in the municipality of Alfenas-MG and subjected to drying, followed by division in a knife mill. The preparation of the dry extract was carried out by the extraction method using simple percolation and the fraction obtained by liquid-liquid partition. Part of the extractive solution was concentrated in a rotary evaporator followed by a drying process using the spray technique with the addition of colloidal silicon dioxide. The dry extract (33.33%) showed a higher yield in mass when compared to the yield of the ethyl acetate fraction (19.67%). The chemical results were obtained through analysis by HPLC-PDA coupled to a mass spectrometer, enabling the verification of the presence of phenolic acids, flavonoids, aglycones and glycosides, in addition to tannins. This corroborates with data present in the literature for the genus *Mimosa* sp. Some compounds had their structure determined, where they were identified as catechin (m/z 288.97), cassiaocidental A (m/z 560.75) and procyanidin B2 [(epi)catechin–(epi)catechin; m/z 576.83]. The in vivo pharmacological evaluation was conducted with a total of 82 male Wistar rats that underwent cecal ligation and perforation surgery to induce the inflammatory process. One week after surgery, these animals were treated for 7 days with the dry extract and the ethyl acetate fraction and submitted to behavioral tests (open field and forced swimming). It was found that the animals that were submitted to the treatment did not present statistically significant results, demonstrating that the pharmacological action evaluated in the test was not highlighted in this type of experiment. The groups that underwent treatment had an aggravated locomotor activity. This demonstrates that the depressive-like behavior that was accentuated after the treatment observed in the forced swimming and open field test makes it difficult to draw greater conclusions about the evaluated pharmacological activity. Therefore, the search for new hypotheses or the use of a new study methodology for evaluation is essential. The results found with the chemical study contributed to the knowledge of the plant species studied. On the other hand, further studies are needed to provide a better understanding of the pharmacological evaluation of *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Keywords: Sansão-do-Campo; phenolic acids; flavonoids; anti-inflammatory activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Local de coleta das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	34
Figura 2 -	Exsicata de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> depositada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG sob o número 3062	35
Figura 3 -	Modelo experimental de sepse por ligação e perfuração cecal (CLP).....	42
Figura 4 -	Demonstração do procedimento cirúrgico de ligação e perfuração cecal (CLP)	43
Figura 5 -	Aparato de acrílico utilizado no teste de campo aberto.....	47
Figura 6 -	Perfil cromatográfico adquirido pela análise por HPLC-UV-DAD do extrato seco obtido das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> . Derivados de ácidos fenólicos (1) e flavonoides (2), (3) e (4)	54
Figura 7 -	Perfil cromatográfico adquirido pela análise por HPLC-UV-DAD da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> . Derivados de ácidos fenólicos (A e B) e flavonoides (C, D, E e F).....	55
Figura 8 -	Estrutura geral de um flavonoide, com os anéis A e B em destaque e seus sistemas benzoil e cinamoil	57
Figura 9 -	Espectro de massas de primeira-ordem, em modo <i>full-scan</i> do extrato seco de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> no modo negativo. Presença de derivados de catequinas.	58
Figura 10 -	Espectro de massas de primeira-ordem, em modo <i>full-scan</i> da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> no modo negativo. Presença de catequinas (C ₁₅ H ₁₄ O ₆ ; PM: 290) e seus derivados.....	58
Figura 11 -	Estrutura dos compostos químicos identificados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	61

Figura 12 - Desempenho comportamental (distância percorrida em cm e velocidade média em cm/s) em animais 14 dias após a cirurgia e 7 dias após tratamento, ao serem submetidos pelo teste de campo aberto	65
Figura 13 - Tempo em segundos que os animais após 14 dias após a cirurgia e 7 dias após tratamento, ao serem submetidos ao teste de nado forçado (n=8)	66

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Compostos fitoquímicos de diferentes espécies do gênero Mimosa	25
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Grupos experimentais (animais Sham e CLP) 07 dias após a cirurgia de ligação e perfuração cecal.....	44
Tabela 2 - Perda percentual de água e/ou substâncias voláteis dos materiais vegetais de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> , após o tempo de secagem...	49
Tabela 3 - Cálculo do tamanho médio das partículas das folhas pulverizadas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	50
Tabela 4 - Rendimentos do extrato seco obtido das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	52
Tabela 5 - Rendimentos da fração acetato de etila obtida do extrato seco de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	52
Tabela 6 - Compostos químicos anotados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila obtidos das folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatório não esteroidal
ANOVA	Análise de variância
Beth.	Betham
CLP	<i>Cecal ligation and puncture</i> (expressão em inglês que significa “cirurgia de ligação e perfuração cecal ou cirurgia de ligadura e punção cecal”)
COXs	Enzimas ciclooxigenases
COX-1	Enzima ciclooxigenase 1
COX-2	Enzima ciclooxigenase 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EPM	Erro padrão da média
ESI	Ionização por electrospray
<i>et al.</i>	<i>Et alli</i> (expressão em latim que significa “e outros”)
Ex	Extrato seco
Fig.	Figura
FrAc	Fração acetato de etila
HPLC (CLAE)	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
HPLC-PDA	<i>High Performance Liquid Chromatography - Photo-Diode Array</i> (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada com Detector de Arranjo de Fotodiodos)
i.d.	<i>Internal Diameter</i> (Diâmetro Interno)
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
I.P.	Via intraperitoneal
IT	<i>Ion Trap</i>
LPMF	Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
MAO	Enzima monoamina oxidase
MeOH	Metanol
Mes	Massa do extrato seco em grama

Mfacet	Massa da fração acetato de etila obtida do extrato seco em grama
NF-kB	Fator nuclear <i>kappa</i> B
NRL	Receptores do tipo NOD
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDA	Detector de Arranjo de Fotodiodos
PM	Peso molecular
S.C.	Via subcutânea
SHAM	Grupo controle
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
TLRs	Receptores do tipo Toll
Tm	Tamanho de partícula
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
UPLC	<i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Grau Celsius ou centígrado
%	Porcentagem
Σ	Somatório
®	Marca registrada
μ L	Microlitro
μ m	Micrômetro
cm	Centímetro
C ₁₈	Reversed-Phase Octadecylsilan (Fase Reversa Octadecilsilano)
g	Gramma
H ₂ O	Água
Kv	Kilovolts
mg	Miligramma
mg/Kg	Miligramma por quilogramma
mg/Kg/dia	Miligramma por quilogramma por dia
mL	Mililitro
mL/Kg	Mililitro por quilogramma
mL/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
Mmv	Massa de tomada do ensaio do extrato bruto em grama
MS	Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas)
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
NaCl	Cloreto de sódio
nm	Nanômetro
UV	Ultravioleta
UV/Vis	Ultravioleta visível
V	Volts
v/v	Volume por volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	21
2.1	OBJETIVOS GERAIS	21
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	22
3.1	PLANTAS MEDICINAIS	22
3.2	<i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> (Mimosaceae)	23
3.3	SECAGEM POR ASPERSÃO (SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO).....	28
3.4	INFLAMAÇÃO	29
3.5	INFLAMAÇÃO E DEPRESSÃO.....	31
3.6	SEPSE.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	34
4.2	DEPÓSITO DAS EXSICATAS.....	35
4.3	SECAGEM E MOAGEM DO MATERIAL VEGETAL (FOLHAS).....	36
4.4	DETERMINAÇÕES DA PERDA POR SECAGEM DAS FOLHAS.....	36
4.5	DETERMINAÇÃO DA GRANULOMETRIA DAS FOLHAS	36
4.6	EXTRATO SECO OBTIDO DAS FOLHAS DE <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	37
4.7	FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDO DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS DE <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	38
4.8	AVALIAÇÃO DO ESTUDO FITOQUÍMICO	39
4.8.1	Preparo da amostra	39
4.8.2	Perfil cromatográfico por HPLC-PDA	40
4.8.3	Espectrômetro de massas	40
4.9	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	41
4.9.1	Animais.....	41
4.9.2	Fármacos.....	41
4.9.3	Cirurgia de ligação e perfuração cecal.....	41
4.9.4	Testes comportamentais	45

4.9.4.1	Campo aberto.....	46
4.9.4.2	Nado forçado	47
4.9.5	Análises estatísticas	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
5.1	DETERMINAÇÃO DE PERDA POR SECAGEM.....	49
5.2	DETERMINAÇÃO DA GRANULOMETRIA.....	50
5.3	SECAGEM POR ASPERSÃO (SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO).....	51
5.4	RENDIMENTOS DO EXTRATO SECO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDA DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS DE <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	51
5.5	PERFIL QUÍMICO	53
5.5.1	<i>Fingerprint</i> por HPLC-PDA	53
5.5.2	Espectrometria de massas	57
5.6	RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE FARMACOLÓGICA.....	64
5.6.1	Campo aberto.....	64
5.6.2	Nado forçado	66
6	CONCLUSÃO.....	68
	REFERÊNCIAS.....	70
	ANEXO.....	79

1 INTRODUÇÃO

Durante muitos anos, a medicina tradicional, limitou-se no uso de espécies vegetais para tratamento e cura dos pacientes, concedendo ao ser humano, através da experiência e observação adquirida ao longo desses tempos uma grandiosa cultura quanto à utilização correta de plantas medicinais. Nos últimos tempos, com o desenvolvimento científico e técnico foi possível descobrir, identificar uma enorme quantidade de componentes bioativos oriundos de espécies vegetais e seus métodos de ação no tratamento de várias enfermidades (DE SOUZA *et al.*, 2021; COLALTO, 2018).

O uso extensivo de plantas medicinais e medicamentos derivados de plantas em culturas tradicionais em todo o mundo promoveu a incorporação de compostos fitoquímicos para promoção da saúde e tratamento de doenças no mundo contemporâneo (SOLEIMANI *et al.*, 2022). As plantas utilizadas como remédios tradicionais ainda são as maiores fontes de recursos terapêuticos mais úteis do planeta Terra, pois exercem uma atribuição importante na saúde de muitas culturas antigas e contemporâneas (PAN *et al.*, 2014; MACÊDO *et al.*, 2021).

As plantas desempenham um papel notável no desenvolvimento de medicamentos devido à sua capacidade de biossintetizar metabólitos secundários com bioatividades significativas (IBRAHIM *et al.*, 2022). Desta forma, produtos naturais e medicamentos tradicionais obtidos a partir de espécies vegetais têm vantagens incomparáveis, como experiências clínicas abundantes e sua diversidade única de estruturas químicas e atividades biológicas que podem ser usadas na concepção e descoberta de medicamentos (RAO; HARAN; RAJPOOT, 2022; YANG *et al.*, 2017).

O conceito de fitoterapia origina do grego “therapeia” e “phyton”, que corresponde ao uso de plantas medicinais e de suas aplicabilidades na promoção à saúde. Portanto, a fitoterapia é uma prática terapêutica que utiliza as propriedades medicinais das plantas para obter a cura de várias doenças. Trata-se de uma escolha alternativa nos tratamentos em que se deseja o uso de produtos menos agressivos à saúde do paciente. Sendo assim, a fitoterapia vem crescendo progressivamente nos últimos anos, sendo reconhecida e ocupando um espaço importante na terapêutica. (LEITE; CAMARGOS; CASTILHO, 2021).

Segundo Arumugam e Watanabe (2017) as plantas têm sido empregues para fins medicinais pelos seres humanos desde muito antes da sua história já registrada. Isolamento, extração e purificação de drogas de plantas medicinais nos tempos antigos atualmente levaram a compostos milagrosos existentes, que direta ou indiretamente, aliviam a humanidade de problemas de saúde. Embora a medicina moderna tenha assumido o controle dos medicamentos fitoterápicos no tratamento de doenças em humanos, o uso de fitoterápicos expandiu nos últimos anos em todo o mundo, pois se acredita que sejam mais seguros do que os medicamentos modernos com pouco ou nenhum efeito tóxico.

O potencial da fitoterapia na área da saúde foi estabelecido por vários estudos fitoquímicos e farmacológicos. A eficácia de um medicamento pode ser significativamente afetada pelo método de administração do medicamento. A lentidão na eficácia de um tratamento sugere uma necessidade crescente de uma abordagem especializada para a administração de medicamentos a alvos específicos no corpo. Conseqüentemente, um sistema de administração de medicamento eficiente que possa fornecer uma quantidade ótima de medicamento ao local de ação deve ser desenvolvido para que a medicina fitoterápica faça uma oferta bem-sucedida no tratamento de várias doenças humanas (NIGAM, 2021; ARUMUGAM E WATANABE, 2017).

A indispensabilidade de se encontrar novos compostos que possam atuar contra as doenças anti-inflamatórias, tem levado aos pesquisadores a busca por novas substâncias. Como é de conhecimento que as plantas possuem excelente fontes de novas drogas anti-inflamatórias, por terem uma ampla diversidade química quando correlacionado com àqueles derivados de origem sintética. As plantas têm se tornado um potencial instrumento de estudo científico devido às suas variadas propriedades medicinais (NOVAIS *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2018).

O crescimento da expectativa de vida tem aumentado a demanda por novos medicamentos para o tratamento de doenças crônicas com ação no trato digestório, diabetes e doenças inflamatórias. O uso de extratos vegetais padronizados com comprovada ação, qualidade e segurança tem apresentado resultados extraordinários em pesquisas relacionadas ao tratamento dessas doenças (BILIA; BERGONZI, 2020; FUMAGALI *et al.*, 2008).

O enfoque químico-farmacológico integrado contribui para o desenvolvimento de novos medicamentos fitoterápicos, fato considerável para a diminuição da

necessidade nacional à importação de fármacos e medicamentos” As indústrias farmacêuticas estão à procura de substâncias provenientes de plantas medicinais – antes que seus “segredos” etnofarmacológicos acabem. Além disso, a maioria dos medicamentos são empregados apenas localmente, pois apenas muito pouco das espécies conhecidas de plantas foram investigadas pela ciência. Um dos motivos é que as plantas são bons laboratórios químicos e fonte de fitoconstituintes com incríveis variedades de atividades biológicas (ASHRAFI *et al.*, 2022; FUNARI *et al.*, 2014).

Avaliações farmacológicas, investigações fitoquímicas e evidências toxicológicas, em conjunto, de uma determinada espécie vegetal podem nos levar à descoberta de medicamentos com alta eficácia. Deste modo, pesquisas nas diversas áreas de estudo são fundamentais para que seja aumentado os conhecimentos referentes às plantas medicinais, bem como, seu mecanismo de ação, quais são os seus efeitos adversos, como seriam suas interações com novos medicamentos e quais as estratégias mais apropriadas para o controle de qualidade e produção de fitoterápicos, considerando as normativas das agências reguladoras (NOUREDDINE; MOSTAFA; MANDAL, 2022; VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Com a ascensão da ciência no desenvolvimento das técnicas cromatográficas e de elucidação estrutural possibilitou a segregação e o reconhecimento dos princípios ativos de forma muito eficaz. Por conseguinte, a cromatografia líquida de ultra-alta performance e a espectrometria de massa de alta resolução tem sido uma das ferramentas amplamente utilizadas nos últimos anos para analisar os componentes de sistemas complexos como os extratos de plantas medicinais (ROZET *et al.*, 2012; ZHONG *et al.*, 2022)

Dentre as substâncias bioativas mais pesquisadas atualmente, estão os flavonoides, que têm o maior destaque no grupo de substâncias fenólicas. Em humanos, os flavonoides estão associados a uma ampla gama de benefícios à saúde decorrentes de suas propriedades bioativas, como propriedades anti-inflamatórias, anticancerígenas, anti envelhecimento, cardioprotetoras, neuroprotetoras, imunomoduladoras, antidiabéticas, antibacterianas, antiparasitárias e antivirais (DIAS; PINTO; SILVA, 2021; ANTUNES-RICARDO *et al.*, 2015).

A estrutura química dos flavonoides, particularmente a presença de grupos hidroxí, influencia a biodisponibilidade e a atividade biológica nos seres humanos. Os flavonoides possuem um esqueleto de flavona básico de 15 carbonos, C₆-C₃-C₆, com

dois anéis benzênicos (A e B) ligados por um anel pirano de três carbonos (C). A posição do anel B do catecol no anel C do pirano e o número e a posição dos grupos hidroxila no grupo catecol do anel B influenciam a capacidade antioxidante dos flavonoides. Os grupos hidroxil funcionais em flavonoides podem doar elétrons por ressonância para estabilizar os radicais livres e mediar a proteção antioxidante. Com base na estrutura dos flavonoides, eles podem ser classificados em seis classes principais, flavan-3-ols, flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavonas e antocianinas (DIAS; PINTO; SILVA, 2021; ŠAMEC *et al.*, 2021; D'AMELIA *et al.*, 2018;).

Os flavonoides podem estar presente nas raízes, folhas, flores e frutos de plantas naturais e possuem muitas características, como atividade biológica múltipla, menos toxicidade e efeitos colaterais. (GU *et al.*, 2022).

Uma das plantas nativas da caatinga do nordeste brasileiro que apresenta em suas folhas uma elevada capacidade de flavonoides é a *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Estudos etnobotânicos forneceram evidências para o uso de *Mimosa caesalpiniiifolia* no tratamento de processos inflamatórios, doenças do trato respiratório e hipertensão (DIAS SILVA *et al.*, 2019).

O extrato hidroetanólico obtido a partir da casca do caule de *Mimosa caesalpiniiifolia* e suas frações de hexano e diclorometano, bem como, o ácido betulínico sozinho mostraram de moderada a alta atividade inibitória contra cólon, ovário e células tumorais de glioblastoma (BRUNA *et al.*, 2015). O extrato hidroetanólico de inflorescências de *Mimosa caesalpiniiifolia* mostrou efeitos hipotensivos e vasos relaxantes em ratos normotensos (SILVA *et al.*, 2018). O extrato etanólico das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* e suas frações de acetato de etila exibiram atividade antioxidante e prevenção de danos oxidativos ao DNA em ratos *Wistar* (SILVA *et al.*, 2014).

De Lima *et al.* (2020), avaliou em seu trabalho os níveis de proteína TNF- α , IL-6 e IL-10 em fígados de ratos intoxicados com cádmio e tratada com a *Mimosa caesalpiniiifolia*. Os resultados obtidos revelaram que a *Mimosa* exerceu algum potencial efeito anti-inflamatório em fígados de ratos previamente intoxicados com cádmio, pelo qual, foi evidenciado que os níveis de TNF- α , IL-6 e IL-10 diminuíram em fígados de ratos tratados com a *Mimosa caesalpiniiifolia*.

Outro estudo que foi conduzido por Dias Silva *et al.* (2019) teve por objetivo avaliar a ação preventiva e/ou protetora de *Mimosa caesalpiniiifolia* após colite experimental em ratos. Os resultados encontrados sugerem que a *Mimosa*

caesalpiniiifolia atenuou as lesões do cólon, reduziu a inflamação e modulou a expressão de COX-2 e TNF- α durante a colite crônica induzida por TNBS quando usado para fins terapêuticos de forma dose-dependente. Outros autores também revelaram que a Mimosa suprimiu TNF- α em um modelo experimental de pancreatite necrosante aguda (KAUR *et al.*, 2016). Cruz *et al.* (2016) confirmou estas descobertas.

O estudo realizado neste trabalho deu continuidade nas pesquisas realizadas por Dias Silva *et al.* (2019) empregando a técnica de secagem por aspersion para obtenção do extrato seco e da extração líquido-líquido do extrato seco para obtenção da fração acetato de etila. Também foram feitas avaliações da atividade anti-inflamatória do extrato seco e da fração acetato de etila obtido das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* em ratos induzidos a processos inflamatórios.

Deste modo, visa-se a importância da continuidade do estudo químico-farmacológico de *Mimosa caesalpiniiifolia*, com o propósito de comprovar seu uso medicinal e suas características farmacológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Realizar o estudo químico e farmacológico do extrato seco e da fração acetato de etila obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* (Mimosaceae).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

São objetivos específicos deste trabalho:

- a) avaliar a perda de água e/ou substâncias voláteis das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*;
- b) determinar a granulometria do pó obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*;
- c) avaliar a técnica de secagem por aspersão no processo de obtenção do extrato seco e da fração acetato de etila obtida das folhas *Mimosa caesalpinifolia*;
- d) realizar ensaios farmacológicos utilizando o extrato seco e fração acetato de etila obtida das folhas da espécie para investigar o potencial da atividade anti-inflamatória e antidepressivo;
- e) anotar os componentes fitoquímicos no extrato seco e na fração acetato de etila obtida das folhas *Mimosa caesalpinifolia* por HPLC-PDA e espectrometria de massas;
- f) contribuir para o conhecimento químico e farmacológico da família Mimosaceae.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais representam uma fonte notável no tratamento de várias doenças humanas e têm desempenhado um papel fundamental na atenção primária à saúde, oferecendo uma rica fonte de novos compostos bioativos na descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos. Elas são atualmente o foco da pesquisa moderna devido à sua grande diversidade química e biológica e por possuir uma variedade de compostos com atividades biológicas promissoras, uma ampla fonte para aquisição de moléculas ativas e insumos fitofarmacêuticos. Estas são analisadas terapêuticamente, na elaboração de muitos medicamentos, fornecendo explicações para inúmeras doenças. (BHAT *et al.*, 2022; YANG *et al.*, 2017)

As principais vantagens de usar medicamentos fitoterápicos são a acessibilidade e geralmente menos efeitos colaterais ao ser humano. Os estudos de pesquisa realizados em plantas medicinais são muito importantes para confirmar sua qualidade, segurança e eficácia (BHATTACHARYA, 2017). A necessidade urgente de novos agentes terapêuticos de propriedades anti-inflamatórias com maior eficácia e menos efeitos indesejados está levando os pesquisadores a dar uma atenção especial às plantas medicinais na busca de novos fármacos para o tratamento da inflamação (RIBEIRO *et al.*, 2018).

As averiguações científicas com plantas medicinais envolvem várias áreas multidisciplinares, como a fitoquímica, que tem como propósito o conhecimento, isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos; a etnobotânica e a etnofarmacologia, que buscam referências a partir do conhecimento de diferentes populações, e a farmacologia, que investiga os efeitos farmacológicos de extratos, frações e dos constituintes químicos isolados a partir das plantas medicinais (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2020).

A inclusão destas áreas no estudo de plantas medicinais conduz a uma via promissora e eficiente para descobertas de novos medicamentos tanto sintéticos como fitoterápicos. A imensa biodiversidade da flora brasileira, torna o Brasil uma grande fonte potencial de plantas medicinais. Inúmeros trabalhos estão sendo realizados no Brasil com o objetivo de embasar, cientificamente, a utilização de plantas como recurso terapêutico. Pois muitas espécies ainda são usadas

empiricamente sem respaldo científico quanto à qualidade, eficácia e segurança. Desta forma, grande parte das plantas nativas brasileiras ainda não tem estudos para permitir a elaboração de monografias completas e modernas (DE SOUZA *et al.*, 2021)

As plantas medicinais representam uma alternativa de estratégias terapêuticas importante para o ser humano devido às suas propriedades curativas, contribuindo de forma significativa na descoberta de novos medicamentos e tratamentos. Os produtos naturais de origem vegetal com atividade anti-inflamatória são considerados uma fonte importante para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Assim, muitos pesquisadores têm despertado o interesse em investigar, conhecer e explorar os efeitos de substâncias naturais e plantas medicinais no tratamento dessa doença. Dentre as plantas que apresentam potencial atividade anti-inflamatória destaca-se as da espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (DE LIMA *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2014).

E dentro desse contexto que o Laboratório de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (LPMF) da UNIFAL-MG vem realizando trabalhos que envolvem estudos empregando fitoquímica e atividade farmacológica de plantas que apresentem uso na medicina tradicional em parceria com o departamento de Fisiologia Humana – UNIFAL/MG e com a Universidade Estadual Paulista (Unesp/Campus Litoral Paulista - São Vicente-SP).

3.2 *Mimosa caesalpiniiifolia* (Mimosaceae)

A *Mimosa caesalpiniiifolia* é uma planta nativa no Brasil vegetação de Caatinga e Cerrado e pertence à família Mimosaceae, sendo amplamente encontrada em região nordeste do Brasil. Esta espécie é popularmente conhecida como “unha-de-gato”, “sabiá”, “angiquinho-sabiá”, “cerca-viva” e “sansão-do-campo”, e apresenta uma elevada capacidade para adaptação e regeneração do solo, além de ser tolerante para solos ácidos. É uma planta pioneira, decídua, heliófita, com ocorrência preferencial em solos profundos, tanto em formações primárias quanto secundárias (BRUNA *et al.*, 2015; DIAS SILVA *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

De acordo com o Sistema de Classificação de Cronquist, a posição taxonômica de *Mimosa caesalpiniiifolia* obedece a seguinte hierarquia apresentada abaixo:

Divisão: Magnoliophyta (Angiospermae)

Classe: Magnoliopsida (Dicotyledoneae)

Ordem: Fabales
Família: Mimosoideae (Mimosoideae)
Subfamília: Fabaceae
Gênero: *Mimosa*
Espécie: *Mimosa caesalpiniiifolia* Bentham
Sinonímia botânica: *Mimosa caesalpiniiifolia* sensu Bentham;
Mimosa punctulata sensu Glaziou.

É usado nas práticas médicas tradicionais em tratamento de processos inflamatórios, doenças bacterianas, parasitárias e fúngicas (SILVA *et al.*, 2014; DE LIMA *et al.*, 2020). Além disso, suas folhas secas ou verdes são frequentemente utilizadas para consumo alimentar como forragem para ovinos, caprinos e bovinos, uma vez que apresentam elevado conteúdo de proteínas e minerais. Considerando seu produto químico composição, muitos triterpenos e compostos fenólicos foram identificados a partir de várias partes (folhas, frutos, flores, galhos e cascas do caule) de *Mimosa caesalpiniiifolia* (BRUNA *et al.*, 2015; PINHEIRO FERREIRA *et al.*, 2021).

A parte química da *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. encontra-se dentro em um gênero para o qual já foram relatados o isolamento e caracterização de várias substâncias, como saponinas, alcaloides, terpenoides e, principalmente de flavonoides (DIAS SILVA *et al.*, 2019; MENG *et al.*, 2009).

Os flavonoides identificados até então em espécies do gênero *Mimosa*, apresentam-se na forma livre ou glicosilada. O quadro 1 apresenta vários compostos fitoquímicos presentes em diferentes espécies do gênero *Mimosa*.

Os compostos fitoquímicos são amplamente conhecidos por suas atividades medicinais. Metabólitos primários, como proteínas, lipídios e aminoácidos, são responsáveis por reações bioquímicas nas plantas, enquanto metabólitos secundários (ou especiais), como saponinas, flavonoides, alcaloides, taninos, fenóis e glicosídeos, protegem as plantas contra danos, defesa e desempenham um papel na melhoria de sabor, cor e fragrância. Os compostos fitoquímicos nas plantas estão mais presentes nas folhas, raízes e caules, e sua porcentagem varia em função das condições ambientais, gênero da planta entre outros fatores. As plantas do gênero *Mimosa* são ricas nesses metabólitos primários e secundários (QUADRO 1), por isso, as espécies vegetais do gênero são bastante conhecidas por seu potencial farmacológico (RIZWAN *et al.*, 2022).

Quadro 1 - Compostos fitoquímicos de diferentes espécies do gênero *Mimosa* (continuação)

Espécie vegetal	Parte/ extrato da planta	Compostos fitoquímicos	Referências
<i>Mimosa tenuiflora</i>	Planta inteira	taninos condensados, procianidinas, prodelfinidinas	(KASHANI <i>et al.</i> , 2012)
	folhas, caule	fenóis totais, taninos totais e taninos condensados	(OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2013)
<i>Mimosa pudica</i>	Extrato de folhas/Extrato etanólico	alcaloides, flavonoides, saponinas e triterpenos	(RACADIO, 2016)
	Extrato de planta inteira/ Extrato etanólico	alcaloides, flavonoides, esteróides, saponinas, fenóis, taninos, glicosídeos cianogênicos e antocianinas	(RIZWAN <i>et al.</i> , 2022)
	Folhas/Extrato aquoso	flavonoides, alcaloides, proteínas, esteróides, taninos, saponinas e terpenóides	
	Extrato de folhas/Extrato metanólico	alcalóides, glicosídeos, terpenóides e aminoácidos	(SHEEBA; GOMATHI; CITARASU, 2015)
	Partes aéreas	alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenóides e cumarinas	(TUNNA <i>et al.</i> , 2015)
	Extrato de raízes/Etanólico	proteínas, esteróis, taninos, terpenóides, alcaloides, flavonoides e compostos fenólicos	(PARMAR <i>et al.</i> , 2015)
	Planta inteira/Extrato aquoso	alcaloides, flavonoides e taninos	

Quadro 1 - Compostos fitoquímicos de diferentes espécies do gênero *Mimosa* (continuação)

Espécie vegetal	Parte/ extrato da planta	Compostos fitoquímicos	Referências
	Extratos de folhas e raízes/Extrato etanólico, metanólico, éter de petróleo e acetona	flavonoides, alcaloides, terpenóides, carboidratos, saponinas, aminoácidos, fenóis, taninos, proteínas e esteróides	(RAMESH S; CHANDRAN C; KARTHIKEYAN K, 2017)
	Folhas/Extrato de acetona, etanólico e aquoso	tanino, terpenóides, flobataninos, esteróides, saponina e glicosídeo	(MAHADEVAN <i>et al.</i> , 2016)
	Planta inteira/Extrato metanólico	flavonoides alcaloides, saponinas, terpenóides, fenóis, glicosídeos, taninos e cumarinas	(RIZWAN <i>et al.</i> , 2022)
	Folhas e caule/Extrato aquoso	saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos e fenóis	(NAGARAJAN; SARAVANARAJA; ARUNA DEVI, 2015)
	Folhas e caule/Extrato aquoso	magnésio, fósforo, cálcio, nitrogênio e potássio	(NAGARAJAN; SARAVANARAJA; ARUNA DEVI, 2015)
	Folhas	neoxantina, viola xantina, luteína, licopeno, carotenos, tocoferol, carotenóides totais e vitaminas totais	(RIZWAN <i>et al.</i> , 2022)
	Planta inteira/Extrato etanólico	alcaloides, flavonoides, taninos, fenólicos e esteróides	
<i>Mimosa pigra</i>	Extrato de raízes/ Extrato etanólico	taninos, flobataninos, flavonóides, triterpenos e saponinas	(KANAKASABAPATHI; GOPALAKRISHNAN, 2015)
	Folhas/ Extrato aquoso e metanólico	flavonoides, quinonas, saponinas, esteróis e taninos	(ROSADO-VALLADO <i>et al.</i> , 2000)

Quadro 1 - Compostos fitoquímicos de diferentes espécies do gênero *Mimosa* (conclusão)

Espécie vegetal	Parte/ extrato da planta	Compostos fitoquímicos	Referências
<i>Mimosa hamata</i>	Extratos de plantas inteiras/Fração etanólica e metanólica	flavonoides, alcaloides, fitoesteróis, glicosídeos, taninos, compostos fenólicos, saponinas e carboidratos,	(SAXENA <i>et al.</i> , 2014)
<i>Mimosa invisa</i>	Folhas/Extrato aquoso	flavonas, glicosídeos, saponinas alcaloides e taninos	(MANOSROI; ZARUWA; MANOSROI, 2011)
<i>Mimosa albida</i>	Planta inteira/ Extrato aquoso	conteúdo fenólico total	(JIMÉNEZ <i>et al.</i> , 2015)
<i>Mimosa scabrella</i>	Mel de melada	aldeídos derivados de lignina, cumarinas, ácidos fenólicos e flavonoides	(SERAGLIO <i>et al.</i> , 2016)
<i>Mimosa rubicaulis</i>	Extrato de caule/metanólico	flavonoides, taninos, triterpenos e carboidratos	(CHOWDARY NANDIPATI <i>et al.</i> , 2014)

Fonte: Do autor (2023).

A caracterização química das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* foi realizada por Silva *et al.* (2014) em seu trabalho de pesquisa, sendo que foram anotadas as principais substâncias bioativas. Entre as substâncias bioativas identificadas nas folhas de *Mimosa caesalpinifolia*, os flavonoides foram os mais abundantes. Por conseguinte, os seguintes compostos bioativos que foram encontrados: catequina e *cafeoil-D-glucose* no extrato alcoólico. Já o galocatequina e catequina galato foram identificados na fração de acetato de etila. Também anotou o ácido gálico, ácido caféico, 5-cafeoilquínico ácido e ácido tartárico como os principais ácidos orgânicos. Além disso, éster contendo glicosídeos flavonoides de ácido *p*-cumárico, também foram detectados.

3.3 SECAGEM POR ASPERSÃO (SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO)

A técnica de secagem por aspersão produz pós secos a partir de líquido ou pasta, secando rapidamente com um gás quente. Primeiro, o composto ativo é disperso ou dissolvido em uma solução contendo o coadjuvante. Em seguida, essa mistura é bombeada para o atomizador, dispersando o líquido ou pasta em um spray de tamanho de gota controlado na câmara de secagem contendo uma corrente de ar quente. Em contato com minúsculas gotas de spray, o ar quente evapora o solvente e, conseqüentemente, ocorre a formação de micropartículas. As partículas são recolhidas no ciclone. Eles são ocos e do tipo matriz. Ou seja, o composto ativo é distribuído por todo o volume da partícula, na parede interna da casca formada, ou mesmo na sua superfície. A técnica de secagem por aspersão tem boa eficiência de encapsulamento e resulta em pós com alta dispersibilidade em água (GOMES SÁ *et al.*, 2023).

Dentro desse quadro, vários autores relataram que a técnica que se destaca na produção de extrato seco é a secagem por aspersão (*spray drying*). A tecnologia de *spray drying* tem sido amplamente aplicada para fins de obtenção de extrato seco devido à sua fácil escalabilidade, flexibilidade, baixo custo de processamento e capacidade de produzir partículas com baixo teor de água, aumentando assim sua estabilidade microbiológica com maior vida útil garantindo assim eficácia, qualidade e segurança dos princípios ativos fitofarmacêuticos (BASSANI *et al.*, 2022).

Para a secagem de extratos derivados de plantas, a seleção e o uso adequado de adjuvantes no processo de *spray drying* é uma fase de fundamental importância, visto que, determina a estabilidade e a qualidade dos mesmos. Vários adjuvantes tecnológicos, incluindo maltodextrina, amido modificado, ciclodextrinas, goma arábica e dióxido de silício coloidal, são geralmente adicionados a soluções extrativas antes da secagem por aspersão, a fim de melhorar o desempenho do processo e a qualidade do produto (FERNANDES *et al.*, 2014).

O dióxido de silício coloidal (aerosil®) é um dos excipientes mais utilizados na secagem por aspersão para soluções extrativas vegetais, pois reduz a umidade residual, bem como a higroscopicidade, otimizando as condições de secagem

O aerosil® (dióxido de silício coloidal), que apresenta elevada superfície específica, e alto poder adsorvente, tem sido amplamente empregado, apresentando excelentes resultados na obtenção de produtos secos por aspersão a partir de soluções extrativas de diferentes espécies vegetais. O aerosil® tem a capacidade de aumentar o tamanho das partículas para auxiliar no processo de secagem por aspersão (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

Os compostos bioativos, principalmente os compostos fenólicos, que são encontrados na folha de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. são facilmente propensos a fenômenos de degradação, sendo sensíveis a múltiplos fatores ambientais, como temperatura, pH, umidade, luz e oxigênio, que limitam muito seu campo de aplicação (SILVA *et al.*, 2014, 2018; SOUZA *et al.*, 2022).

Para melhorar a estabilidade dos compostos bioativos, preservar as características tecnológicas e preservar a maior concentração possível dos constituintes com atividade biológica das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. é fundamental a aplicação de técnica de secagem correta na obtenção do extrato seco. Deste modo, no desenvolvimento e obtenção de extrato seco, a técnica de secagem por aspersão (*spray drying*) foi a utilizada com intuito de se obter o pó (extrato seco) com menor partícula possível, de tamanho mais uniforme, com maior concentração de constituintes químicos e com melhores características tecnológicas.

3.4 INFLAMAÇÃO

A inflamação é um processo envolvido na patogênese e progressão de várias enfermidades. É uma resposta fisiológica que protege nosso corpo contra danos aos

tecidos ou microorganismos. A reação inflamatória visa restaurar o tecido afetado por lesão ou infecção (SILVA *et al.*, 2018).

A história de substâncias analgésicas e anti-inflamatórias deu início com a utilização da decocção de plantas contendo salicilato pelos antepassados médicos gregos e romanos. Foram lançados para essa terapia ao longo dos últimos 140 anos os AINEs (anti-inflamatório não esteroidal). Eles são um grupo heterogêneo de substâncias sem propriedades químicas uniformes (embora a maioria sejam ácidos orgânicos), mas, no entanto, possuem as mesmas ações farmacológicas e efeitos adversos (WONGRAKPANICH *et al.*, 2018). Em geral, suas atividades estão associadas com o impedimento da enzima ciclooxigenase (COX), que leva a inibição de prostaglandinas e tromboxanos. Duas isoformas de COX (COX-1 e COX-2) estão caracterizadas em mamíferos, a ação anti-inflamatória dos AINEs está caracterizada pela inibição da COX-2, cuja expressão é induzida na maioria dos tecidos, principalmente durante uma resposta inflamatória (SIMMONS; BOTTING; HLA, 2004; WONGRAKPANICH *et al.*, 2018).

Para evitar os efeitos adversos que podem ser desencadeados no decorrer do processo inflamatório são utilizados fármacos anti-inflamatórios, tais como os anti-inflamatórios não esteroidais e os glicocorticóides, que atuam impedindo a formação de mediadores inflamatórios e o desencadeamento de um processo inflamatório (MARMITT *et al.*, 2015; NOOREEN *et al.*, 2022). No entanto, o uso prolongado desses fármacos pode levar ao progresso de alguns efeitos contrários, muitas vezes graves, podendo conduzir a complicações sérias à vida de quem utiliza esses fármacos, tornando dessa forma a busca por outras possibilidades mais seguras e eficazes (JHA *et al.*, 2018). Diante desse cenário, as plantas medicinais são enorme aliadas, visto que o uso delas na medicina tradicional para tratamento de enfermidades e prevenção de doenças é uma das práticas mais antigas conhecidas pelo ser humano, além de ser outro caminho de maior acesso à população, tornando assim importantes pesquisas utilizando espécies vegetais (HAYTA; POLAT; SELVI, 2014; MOEINI *et al.*, 2022).

Flavonoides, polifenóis, proantocianidinas, alcaloides, terpenóides e os compostos esteróides são geralmente responsáveis pelas atividades anti-inflamatórias dos extratos vegetais. Estes metabólitos secundários atuam em diferentes alvos envolvidos na via inflamatória. Vários flavonoides são relatados como possuidores de atividade anti-inflamatória tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Vários

mecanismos de ação são propostos para explicar a ação anti-inflamatória *in vivo*, no entanto, elas não são totalmente esclarecidas. O alvo principal para atividade anti-inflamatória é a inibição de enzimas geradoras de eicosanóides, incluindo fosfolipase A2, ciclooxigenases (COXs) e lipoxigenases, levando à redução de prostanóides e leucotrienos (POTENZA *et al.*, 2021). Outros mecanismos incluem inibição da liberação de histamina, fosfodiesterase, proteínas quinases e ativação de transcriptases (RIBEIRO *et al.*, 2018).

3.5 INFLAMAÇÃO E DEPRESSÃO

A depressão é uma doença comum que limita de maneira grave o funcionamento psicossocial do ser humano. É a quarta principal causa de incapacidade de longo prazo em todo o mundo, afetando cerca de 350 milhões de pessoas em todo o mundo, de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) (DAI *et al.*, 2022; MALHI; MANN, 2018). Além disso, a depressão é um dos distúrbios neuropsiquiátricos mais graves, representando 40,5% de todos os anos de vida ajustados por incapacidade causados por patologias mentais (DAI *et al.*, 2022; WHITEFORD; FERRARI; DEGENHARDT, 2016).

Segundo Dai *et al.* (2022) uma série de fatores pode conduzir para o episódio da depressão, incluindo estresse psicológico e conflito, fatores genéticos, imunológicos e ambientais, dentre os quais o estresse é um fator primordial para o aparecimento da depressão.

A fitoterapia vem sendo empregada cada vez mais no tratamento de várias doenças, incluindo a depressão. Deste modo, aumenta cada vez mais o interesse de pesquisadores quanto ao uso de produtos naturais para o tratamento da depressão. Os fatores que despertam o interesse dos estudiosos nas plantas medicinais é devido ao fato de obter medicamentos com acessibilidade a população, devido, muitas vezes, da ineficácia dos medicamentos tradicionais, bem como, seus efeitos colaterais, além da falta de medicamentos disponíveis no mercado (DAI *et al.*, 2022; TAHSIN *et al.*, 2021).

Diversos experimentos com animais e ensaios clínicos randomizados estão acontecendo nos últimos anos com o objetivo de ratificar os efeitos antidepressivos de muitos medicamentos fitoterápicos ou produtos naturais. Essas verificações fornecem uma fundamentação científica e uma direção de pesquisa para apoiar o uso

tradicional de medicamentos fitoterápicos. Para melhor compreender os potenciais efeitos da administração dos produtos naturais e desenvolver um medicamento promissor com elevada eficácia e baixa toxicidade para o tratamento da depressão induzida pelo estresse, cada vez mais investigações científicas no que diz respeito à pesquisa de produtos naturais com atividades antidepressivas devem acontecer (DAI *et al.*, 2022).

Existem diversas hipóteses relacionadas com a fisiopatologia da depressão. Uma das hipóteses é que citocinas pró-inflamatórias e, processos inflamatórios em geral, possam influenciar o comportamento, prazer e bem estar, pela indução da neuroinflamação (CARLESSI *et al.*, 2021).

Há também a ideia que a depressão esteja associada à redução de monoaminas como a noradrenalina, dopamina e serotonina ao nível da fenda sináptica. Este ato ocorre devido à redução da síntese de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT, e aumento da expressão da enzima responsável pela metabolização destas monoaminas (MAO - Monoamina oxidase), fato intimamente relacionado à indução de sintomas depressivos (ALMEIDA; HENNA NETO; SILVA, 2021; TAN *et al.*, 2022).

A comunicação entre o sistema imunológico e o cérebro é importante para que o organismo hospedeiro se envolva em comportamentos de defesa temporários e específicos. Como, por exemplo, a redução das atividades locomotoras e exploratórias, retraimento social, anorexia e anedonia, que juntos são conhecidos como comportamento doentio (MAZUCO *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020; REIS *et al.*, 2022). Além disso, a inflamação costuma ser acompanhada de manifestações térmicas, como febre (BLOMQUIST; ENGBLOM, 2018; REIS *et al.*, 2022). Embora a inflamação seja uma reação adaptativa a diferentes estímulos nocivos, em condições crônicas como a sepse, pode causar graves disfunções de múltiplos órgãos e, conseqüentemente, distúrbios neurológicos e morte. Portanto, é importante descobrir novos agentes multi alvo, não tóxicos e altamente potentes para uso terapêutico em diferentes doenças humanas relacionadas à inflamação (REIS *et al.*, 2022).

3.6 SEPSE

A sepse é um processo inflamatório desencadeado pela presença de infecção ou dano tecidual causado por bactérias ou endotoxinas, e tem como resposta a

liberação de citocinas na corrente sanguínea, que proporciona uma resposta inflamatória sistêmica (UTIGER *et al.*, 2021).

Quando acontece algum dano ao tecido, há a formação de mediadores inflamatórios e a ativação de células pró-inflamatórias, pelos receptores do tipo Toll (TLRs), que induzem a pró-interleucina 1 beta (IL-1 β), que, através dos receptores do tipo NOD (NRL) faz com que haja a formação de inflamassomas, resultando na ativação da caspase-1, enzima muito importante para a regulação celular, a apoptose e para o processo inflamatório como um todo. Além disso, ocorre o processamento de IL-1, ativando a via fator nuclear kappa B (NF-kB), que é de extrema relevância na inflamação. Endotoxinas também são liberadas e induzem a resposta imune pró-inflamatória (CINEL; OPAL, 2009; DICKSON; LEHMANN, 2019; QIAO *et al.*, 2022).

Assim, a indução da sepse experimental é feita a partir da técnica de ligação e perfuração cecal (CLP - do inglês, cecal ligation and puncture), em que se faz uma ligadura e determinadas perfurações no ceco. Barichello *et al.* (2007) em seu trabalho de pesquisa sugeriu que há uma ligação entre o comportamento desenvolvido pelos animais que passam por essa cirurgia e o comportamento depressivo em humanos, visto que ambos estão associados à mediadores de inflamação, sendo principalmente, TNF- α , IL-1, IL-6 e proteína C reativa altamente expressos em pacientes depressivos. Estudos mostram que estes mediadores são produzidos através da ativação de monócitos, e são extremamente importantes para induzir a resposta inflamatória tardia (CINEL; OPAL, 2009; QIAO *et al.*, 2022).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Foram coletados às 08 horas, do dia 02 de dezembro de 2020, no sul do Estado de Minas Gerais, próximo ao Alfenas Tênis Clube, município de Alfenas, sob as coordenadas geográficas 21°25'37.3"S e 45°55'45.8"W as folhas da espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Para evitar a influência da variação sazonal sobre os componentes químicos presentes nas folhas frescas da espécie vegetal a coleta do material teve seu horário estabelecido no período da manhã.

Os dados de coleta e as coordenadas do local foram fornecidos pelo Prof. Dr. Marcelo Aparecido da Silva, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Figura 1 - Local de coleta das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia*



Fonte: Do autor (2023).

4.2 DEPÓSITO DAS EXSICATAS

A exsicata da espécie *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. foi depositada e registrada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas, campus Alfenas-MG, sob o número de registro 3062. A espécie foi identificada anteriormente pelo professor Dr. Geraldo Alves da Silva, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (UNIFAL-MG) e pelo professor Dr. Marcello Pollo, do Instituto de Ciências Biológicas (UNIFAL-MG).

Figura 2 - Exsicata de *Mimosa caesalpiniiifolia* depositada no Herbário da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG sob o número 3062



Fonte: Do autor (2023).

O presente trabalho foi cadastrado (nº A8079A6) no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) – Ministério do Meio Ambiente, Brasil – em concordância com os termos da Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

4.3 SECAGEM E MOAGEM DO MATERIAL VEGETAL (FOLHAS)

As folhas coletadas da espécie vegetal foram previamente separadas e dispostas em camadas finas, sendo submetidas à secagem em estufa de circulação e renovação de ar (Solab[®] SL 102), a 45°C, até o peso constante. A temperatura da estufa foi controlada por meio de termostato e de termômetro, os quais garantiram a homogeneidade no processo de secagem (SILVA *et al.*, 2012, 2018).

Após a secagem, os materiais vegetais passaram por uma divisão, seguida pela pulverização em moinho de facas (Cróton[®] TE-625-TECNAL). O pó obtido foi pesado e armazenado em frascos de vidro âmbar devidamente vedado, identificado e rotulado.

4.4 DETERMINAÇÕES DA PERDA POR SECAGEM DAS FOLHAS

Cerca de 8 g de cada material vegetal fresco foram colocados para secagem em estufa de ar circulante à temperatura de 45°C. A perda de água e compostos voláteis foram monitorados por pesagens consecutivas, até que o peso ficou constante. Os resultados foram expressos em perda de substâncias voláteis e/ou de água percentual, pela média de três determinações. As amostras foram pesadas em um tempo pré-estabelecido, de 6 em 6 horas (SILVA *et al.*, 2012, 2018).

4.5 DETERMINAÇÃO DA GRANULOMETRIA DAS FOLHAS

O pó que foi obtido, após a moagem, foram padronizados quanto aos seus tamanhos médios de partícula, segundo os critérios especificados pela farmacopeia brasileira, 6^a edição (ANVISA, 2019). Para isto, foram utilizados tamises de malhas 250, 355, 500, 710 e 850 µm, do menor para o maior diâmetro, e um agitador eletromagnético Bertel[®].

Inicialmente foi feita a regulagem do reostato, na finalidade de calibrar a intensidade da vibração. Para isto, 30 g do pó a ser analisado foi colocado no tamis mais fino da série escolhida e efetuou-se a tamisação com o conjunto de 6 tamises selecionados, nas intensidades de vibração 1, 3, 5, 7 e 9, durante 2 minutos. De posse desses dados, a vibração foi regulada de acordo com o peneiramento que apresentou o melhor rendimento; no caso, foi escolhida a vibração de número 5 para o material

vegetal. Com a vibração já pré-selecionada, 100 g da amostra foi pesada e transferida para o tamis de malha 850 µm e submetidos à vibração por 15 minutos. Após o término do tempo, as amostras retidas em cada tamis foram removidas, transferidas para um papel impermeável e pesadas.

Em seguida, os tamanhos médios das partículas foram mensurados e a distribuição das partículas foi expressa pela referência à abertura nominal da malha dos tamises utilizados. Para o cálculo do tamanho médio das partículas (T_m) foi utilizada a seguinte expressão, dada por Ansel, Popovich e Allen Jr (2000):

$$T_m = [\sum (\% \text{ retida}) \times (\text{abertura média})] / 100 \quad (\text{Eq. 1}).$$

4.6 EXTRATO SECO OBTIDO DAS FOLHAS DE *Mimosa caesalpinifolia*

O preparo do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* foi realizado no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Alimentos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNIFAL-MG, Unidade I, Campus Sede.

Para obtenção do extrato bruto submeteu 371,73 g da droga vegetal obtida ao método de extração exaustivo de percolação simples desenvolvido segundo Prista, Alves e Morgado (2008). O processo teve início com o intumescimento prévio do pó com o solvente de escolha para extração (etanol 70% (v/v)), até que atingisse a textura suficientemente ideal para compactar sem encharcar. Após esse período, o percolador foi empacotado com a mistura de pó + etanol 70% (v/v) da forma mais homogênea possível, evitando a formação de bolhas ou de caminhos alternativos dentro do percolador. O líquido extrator foi adicionado aos poucos, até cobrir a superfície do pó, e a mistura foi deixada em maceração por 48 horas. Após este período, procedeu-se a percolação com o gotejamento na frequência de vazão de 1-2 mL/min. Obteve-se aproximadamente 1200 mL de solução extrativa (percolado) após o processo de extração.

Uma parte da solução extrativa (400 mL correspondente a 82,35 g do extrato bruto) foi concentrada em rotaevaporador (Fisatom® 801), à temperatura de 50°C. Posteriormente, foram submetidos ao processo de secagem pela técnica por *spray drying* que é também conhecida como secagem por aspensão, no qual um líquido, seja solução, suspensão ou emulsão, é transformado em pó em uma operação contínua

composta pela pulverização deste líquido seguida de secagem do solvente (POOZESH; BILGILI, 2019).

A secagem por atomização foi conduzida em um mini *spray dryer* da marca Büchi e modelo B-290, com capacidade máxima de secagem de 1,0 litro por hora. Com bico atomizador integrado de duplo fluido com 0,7 milímetro de diâmetro. O atomizador de secagem Büchi B-290 funciona segundo o princípio da corrente de ar e de produto em sentido concorrente. O processo envolveu a atomização da solução extrativa em pequenas gotículas dentro de uma câmara de secagem por onde passou um fluxo de ar quente. Essas gotículas foram secas pelo ar, transformando-se em pequenas partículas sólidas.

Estes testes foram realizados a temperatura de entrada do ar de secagem de 130°C e temperatura de saída 75–80°C, com vazão de alimentação de 10 mL/h (controlado por bomba peristáltica) e aspiração de 80%, com adição de Aerosil 200®, usado como adjuvante de secagem. Foram adicionados 2,5 g (32,05%) do Aerosil 200® em cada 100 mL de extrato concentrado.

As condições de secagem foram pré estabelecidas com o intuito de otimizar o rendimento no processo de secagem, garantir a menor porcentagem de umidade no extrato, aumentar o índice de solubilidade do extrato em água e ter mais uniformidade no tamanho médio de partículas.

O rendimento do extrato seco foi calculado pela expressão: $\text{Rendimento (\%)} = (\text{Mes/Mmv}) \times 100$ (**Eq. 2**), em que Mes é a massa de extrato seco ao final do processo (g) e Mmv é a massa de tomada de ensaio do extrato bruto (g).

Após a obtenção do extrato seco, os produtos foram acondicionados em frascos âmbar, devidamente rotulados e mantidos em geladeira, para posterior uso nos ensaios farmacológicos.

4.7 FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDO DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS

DE *Mimosa caesalpinifolia*

O preparo da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*. foi realizado no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e no Laboratório de Farmacognosia da UNIFAL-MG, Unidade I, Campus Sede.

Para obtenção da fração acetato de etila 15 g do extrato seco foi dividida em três partes de 5 g, sendo que, cada parte foi dissolvida em água (300 mL) e particionada com 200 mL de acetato de etila por cinco vezes. Após o procedimento de partição, obtendo a fração orgânica do particionado. O solvente orgânico volátil foi submetido à evaporação por rotaevaporador e posterior secagem dentro de capela de exaustão sobre aquecimento em chapa na temperatura de 35°C.

O rendimento da fração acetato de etila obtida do extrato seco foi calculado pela expressão: $\text{Rendimento (\%)} = (\text{M}_{\text{facet}}/\text{M}_{\text{es}}) \times 100$ (**Eq. 3**), em que M_{facet} é a massa da fração acetato de etila obtida do extrato seco ao final do processo (g) e M_{es} é a massa de tomada de ensaio do extrato seco (g).

Após a obtenção da fração acetato de etila, os produtos foram acondicionados em frascos âmbar, devidamente rotulados e mantidos em geladeira, para posterior uso nos ensaios farmacológicos.

4.8 AVALIAÇÃO DO ESTUDO FITOQUÍMICO

4.8.1 Preparo da amostra

Com o objetivo de realizar uma triagem fitoquímica, realizou-se um "*fingerprint*" para a caracterização química no extrato seco e na fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*.

As amostras foram preparadas em pequena escala para análise da composição química. As amostras foram submetidas à etapa de clean-up por extração em fase sólida (SPE) em cartucho de fase reversa C₁₈ com 500 mg (45 µm, Chromabond®). O cartucho foi previamente ativado com MeOH (4,5 mL) e equilibrado com H₂O (4,5 mL) e MeOH/H₂O (85:15, v/v) (4,5 mL). As amostras (10 mg) foram previamente solubilizadas em 1,5 mL da solução MeOH/H₂O (85:15, v/v), carregado no cartucho e eluído com a mesma proporção de fase móvel. Após a secagem, 2 mg de amostra foi ressuspensa em 2 mL de uma solução MeOH/H₂O (1:1, v/v) fornecendo uma solução com uma concentração de 1 mg/mL. Ao fim, a solução foi filtrada em filtro PTFE Millex® com tamanho de poro 0,22 µm.

4.8.2 Perfil cromatográfico por HPLC-PDA

O perfil químico cromatográfico das amostras foi realizado em um sistema LCQ FLEET, Thermo Scientific®, Waltham, MA, USA. Sistema Accela, acoplado a um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com sistema quaternário de bomba e injetor automático com detector de arranjo de diodos. As amostras foram analisadas no laboratório do Instituto de Biociências da Unesp, Câmpus do Litoral Paulista, São Vicente.

4.8.3 Espectrômetro de massas

Os espectros de massas foram obtidos em um espectrômetro de massas LCQ FLEET da Thermo Scientific®, equipado com um dispositivo de inserção direta da amostra via análise por injeção em fluxo contínuo (FIA). O extrato seco e a fração acetato de etila foram analisadas no modo de ionização por electrospray (ESI) e as fragmentações em múltiplos estágios (MS2, MS3) realizadas em uma interface do tipo ion-trap.

As separações em HPLC foram conduzidas em uma coluna Hypersil Gold™ de fase reversa C₁₈ (50 mm x 2 mm i.d., 2 µm). O volume de injeção foi de 5 µL e a vazão de 1 mL.min⁻¹. Para a eluição das amostras foi utilizado um gradiente linear com uma fase móvel composta por água acidificada com 0,1% de ácido fórmico (solvente A) e metanol (solvente B), de 5 a 40% (B) em 8 min e 40 a 100% (B) em 3 min. A voltagem de ionização foi de 4,5 kV, do capilar foi ajustada para 11 V e a temperatura do capilar para 275°C. Os experimentos de fragmentação foram realizados por dissociação induzida por colisão (CID) e foram executados no modo auto MSn (fragmentação inteligente) usando o modo UltraScan para aquisição de MS/MS e um aumento de energia de colisão com a máxima amplitude de fragmentação definida para 60%. A faixa de aquisição foi de m/z 100-1500. Os espectros de massas foram adquiridos no modo positivo e negativo e processados no software DataAnalysis. As análises foram realizadas no laboratório do Instituto de Biociências da Unesp, Câmpus do Litoral Paulista, São Vicente.

4.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

O extrato seco e a fração acetato de etila foram enviados para o Departamento de Fisiologia - UNIFAL/MG, e os ensaios farmacológicos foram avaliados pela supervisão do Prof. Dr. Alexandre Giusti Paiva.

4.9.1 Animais

Foram utilizados ratos adultos machos (6 semanas), da linhagem *Wistar*, pesando entre 200 e 300g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Alfenas-MG. Os animais ficaram em ambientação no laboratório por 7 dias e tiveram livre acesso à água e alimento (ração peletizada normoproteica) e foram mantidos à temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, em fotoperíodo definido de 12 horas, com as luzes acesas às 07:00.

Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Alfenas, sob o número de registro 0033/2020.

4.9.2 Fármacos

No processo de cirurgia de ligação e perfuração cecal alguns fármacos foram utilizados no procedimento experimental. São eles: Pentabiótico (Ford Dodge Saúde Animal LTDA), Tramadol (Distribuidora de Produtos Farmacêuticos Valle Med Ltda), Ketamina (Distribuidora de Produtos Farmacêuticos Valle Med Ltda), Xylazina (Distribuidora de Produtos Farmacêuticos Valle Med Ltda), solução fisiológica 0,9% (Isofarma) e Álcool Clorexidina 0,2% (Isofarma).

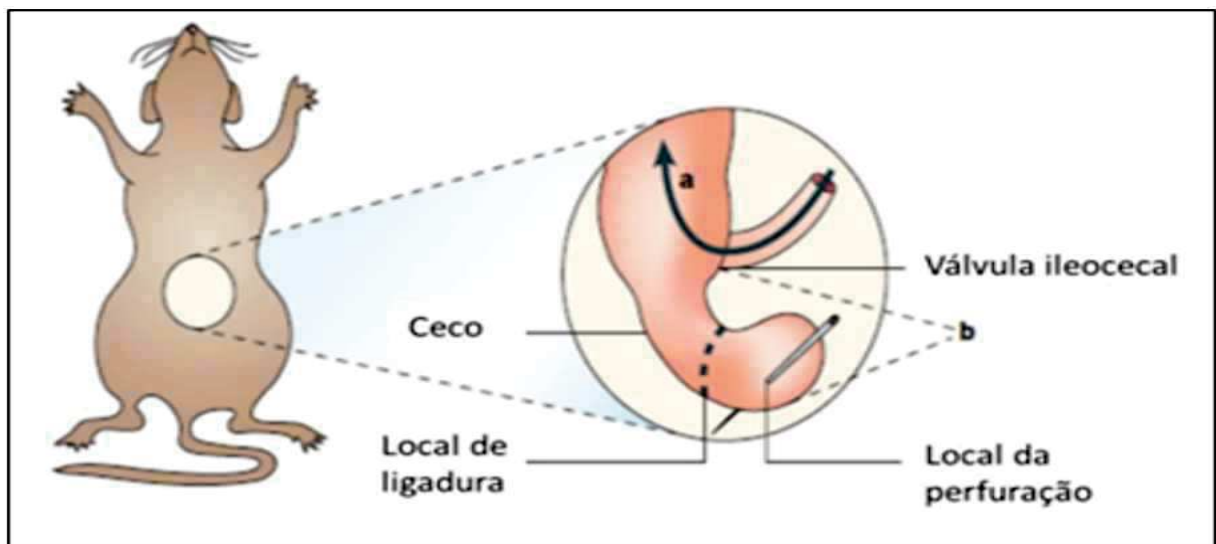
4.9.3 Cirurgia de ligação e perfuração cecal

Após 7 dias de ambientação dos animais no laboratório, foi realizada a cirurgia de ligação e perfuração cecal. Os animais do grupo controle (SHAM) passam pela cirurgia, mas não passam pelo procedimento de ligadura e perfuração, e, os animais CLP passam pelo procedimento, no qual é feita uma ligadura próxima à válvula íleo-cecal e a extremidade final do ceco é perfurada.

Os animais foram sedados inicialmente com Ketamina (80 mg/Kg) e Xylazina (30 mg/Kg), administrados conjuntamente via intraperitoneal (I.P.), e analgésicos com Tramadol (12,5 mg/Kg) via subcutânea (S.S.). Após a anestesia total do animal, foi realizada a tricotomização e assepsia da região inferior do abdômen com álcool clorexidina 0,2%. O local cirúrgico e o material utilizado na cirurgia também foram esterilizados, a fim de reduzir a contaminação (OLIVIERI *et al.*, 2018).

O acesso ao ceco e ao intestino adjacente foi realizado através de uma laparotomia mediana, de cerca de 2 cm. Em seguida, o ceco foi exposto e ligado com uma sutura de seda (3,0 cm) na sua base, abaixo da válvula ileocecal, onde foi perfurado duas vezes com uma agulha calibre 18G. O ceco foi exposto e espremido delicadamente para extrudar uma pequena quantidade de fezes através da perfuração. Em seguida, o ceco foi levado novamente à cavidade abdominal e a laparotomia foi fechada em quatro pontos com sutura de fio de seda (4,0 cm). Os animais do grupo controle (SHAM) tiveram o ceco exteriorizado e retornado ao abdômen e posteriormente, a cavidade abdominal suturada conforme mencionado (figuras 3 e 4) (OLIVIERI *et al.*, 2018).

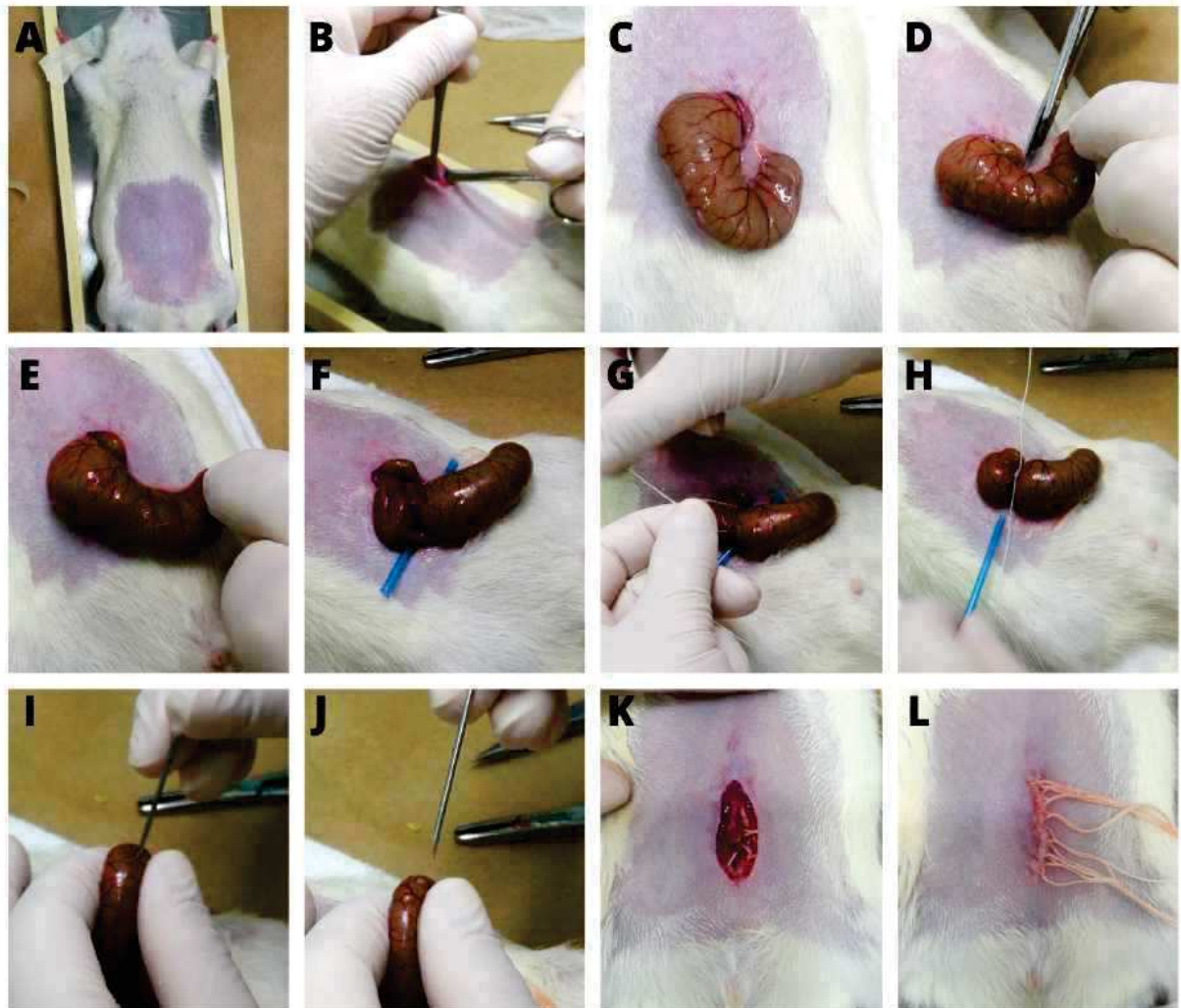
Figura 3 - Modelo experimental de sepse por ligação e perfuração cecal (CLP)



Fonte: Adaptado de BURAS; HOLZMANN; SITKOVSKY, 2005.

Legenda: A figura 3 representa o ceco (em detalhe) exposto por laparotomia. Em (a), temos a junção entre o intestino delgado e o grosso (ceco). Em (b), a porção do ceco que é parcialmente ligada (sem que haja obstrução) e perfurada.

Figura 4 - Demonstração do procedimento cirúrgico de ligação e perfuração cecal (CLP)



Fonte: Do autor (2023).

A figura 4 demonstra os procedimentos da técnica de ligadura e perfuração cecal. O animal é inicialmente anestesiado, sedado e fixado em uma cama térmica, utilizada para controlar a sua temperatura corporal durante a cirurgia (A). Em seguida, uma abertura cirúrgica da cavidade abdominal (laparotomia) mediana é feita no abdômen através de incisões nos tecidos epidérmico e muscular (B). Na sequência, o ceco é exposto pela laparotomia (C) e o mesentério cortado (D). Para que haja uma quantidade considerável de conteúdo cecal para ser extrudado, o mesmo é empurrado em direção a porção final do ceco. Uma haste flexível é posicionada abaixo do ceco, a fim de impedir a interrupção do fluxo da válvula ileocecal (F). A ligadura cecal é realizada (G) e a haste é removida (H). A região inferior do ceco é perfurada duas vezes (I), em porções menos vascularizadas, para evitar hemorragia (J). O ceco é

então espremido delicadamente para extrudar o conteúdo cecal (J) e devolvido à cavidade abdominal (K). Para finalizar, a musculatura e a pele são suturadas. É recomendado deixar uma porção adicional de linha de sutura para que o animal possa roer, impedindo o rompimento dos pontos antes da cicatrização completa (L).

Imediatamente após ao término da cirurgia, todos animais SHAM e CLP receberam em dose única: solução fisiológica (NaCl) 0,9% (50 mL/Kg) via intraperitoneal (I.P.) e Pentabiótico (0,01 mL/100 g) via subcutânea (S.C.). Além disso, 24 horas após a cirurgia, os animais foram analgesiados novamente com Tramadol (12,5 mg/Kg). Os animais foram alocados individualmente em caixas de acrílico de formato retangular (30 cm x 19,5 cm x 12 cm), permanecendo pelo período de 7 dias. Para minimizar a variabilidade entre diferentes experimentos, o procedimento cirúrgico foi realizado pelo mesmo pesquisador. (OLIVIERI *et al.*, 2018; RITTIRSCH *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Grupos experimentais (animais Sham e CLP) 07 dias após a cirurgia de ligação e perfuração cecal

Grupos	Dias após a CLP	Número de animais por grupo
Sham	07	08
C-VCLP	07	08
C+VCLP	07	08
Ex30CLP	07	08
Ex100CLP	07	08
Ex300CLP	07	08
FrAc10CLP	07	08
FrAc30CLP	07	08
FrAc100CLP	07	08

Fonte: Do autor (2022).

Após 7 dias da cirurgia de ligação e perfuração cecal e consequente recuperação, os animais foram divididos em 9 grupos experimentais. Todos os animais (exceção dos animais do grupo SHAM) foram submetidos a um tratamento uma vez ao dia por um processo de gavagem durante o período de 7 dias.

As concentrações (dosagem) e o método de administração dos grupos experimentais foram definidos com base em estudos comportamentais, endócrinos e neuroquímicos anteriores (REIS *et al.*, 2022).

O grupo 1 foi o controle SHAM que é um controle para o experimento laboratorial. Na sequência tivemos mais dois grupos controles, positivo e negativo. O grupo controle negativo recebeu por gavagem a solução de carboximetilcelulose 1% em água que é o veículo para administração do extrato seco e da fração acetato de etila. Os animais do grupo controle positivo receberam a administração do medicamento amitriptilina na concentração de 25 mg/Kg/dia.

Os animais do grupo de 4 a 6 foram tratados com diferentes concentrações do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. O grupo 4 foi tratado com o extrato seco na concentração de 30 mg/Kg, grupo 5 foi tratado com o extrato seco na concentração de 100 mg/Kg e grupo 6 foi tratado com o extrato seco na concentração de 300 mg/Kg.

Por fim, os animais do grupo de 7 a 9 receberam a administração de diferentes concentrações da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. O grupo 7 foi tratado com a fração acetato de etila na concentração de 10 mg/Kg, grupo 8 foi tratado com a fração acetato de etila na concentração de 30 mg/Kg e grupo 9 foi tratado com a fração acetato de etila na concentração de 100 mg/Kg.

Todas as amostras preparadas com o extrato seco e com a fração acetato de etila foram submetidas a um processo de centrifugação para retirada do adjuvante de secagem antes da administração aos animais. Além do mais, para o preparo das amostras foi aplicado o fator de correção para determinação das dosagens.

4.9.4 Testes comportamentais

Os testes comportamentais em animais são utilizados para mimetizar situações humanas em roedores. No caso da depressão é possível explicar sua patofisiologia através testes comportamentais que possuam boa validade preditiva e permite uma rápida detecção das mudanças comportamentais. A fim de avaliar os testes com boa reprodutibilidade e de maneira bem sucedida, é essencial combinar diferentes métodos avaliativos, e assim elevar a confiabilidade do modelo (HAO *et al.*, 2019).

Após os 7 dias de tratamento, os animais de todos os grupos foram submetidos a testes comportamentais de Nado Forçado e Campo Aberto. Posteriormente, foram realizadas as análises dos vídeos, e para o teste de Campo Aberto foi utilizado o

programa Ethovision. Assim, os dados obtidos foram colocados no programa GraphPad Prism 8 para realização das análises estatísticas.

4.9.4.1 Campo aberto

O modelo do campo aberto tem importante valor para testar agentes farmacológicos que produzem depressão do sistema nervoso central. Pode-se avaliar a ansiedade e o comportamento exploratório a partir da quantidade de levantamentos (“*rearing*”) e o tempo que o animal faz o movimento de limpeza (“*grooming*”), além da atividade locomotora (MACHADO *et al.*, 2009; PALE *et al.*, 2022).

A avaliação deste teste permitiu verificar a atividade locomotora em roedores. Os animais foram colocados individualmente no centro de uma arena de acrílico, de fundo preto, (com diâmetro de 60 cm e paredes com 50 cm de altura), e filmados por 20 minutos para posterior análise (Fig. 05). Em seguida, o aparato foi limpo com solução de etanol a 5%, e na sequência foi realizado a análise de maneira automática pelo software Ethovision XT versão 9.0. Foram observados os seguintes parâmetros: distância total percorrida horizontalmente e velocidade média de deslocamento do animal.

Figura 5 - Aparato de acrílico utilizado no teste de campo aberto



Fonte: Do autor (2021).

4.9.4.2 Nado forçado

Este teste é usado para verificar sintomas semelhantes à depressão em roedores. Para a realização do teste, utilizamos um aparato cilíndrico transparente de 24 cm de diâmetro por 60 cm de altura, contendo 50 cm de água a $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (PADOVAN; GUIMARÃES, 2004). O volume de água permitiu ao animal nadar ou boiar sem encostar as patas ou a cauda no fundo do aparato. O animal foi colocado para nadar por um período de 15 minutos no dia anterior ao teste (pré teste), e no dia do teste, foi filmado por 5 minutos para posterior avaliação. A avaliação levou em conta os seguintes parâmetros: 1) *floating* (número de vezes que o animal flutua, sem apresentar movimentos); 2) *swimming* (quando o animal se movimenta e realiza rotações no aparato).

4.9.5 Análises estatísticas

Os dados foram analisados utilizando-se o programa do software GraphPad versão 8.0 e expressos como média \pm erro padrão da média (EPM). A ANOVA de duas vias foi realizada para comparar os dados entre os grupos SHAM e CLP, quanto aos parâmetros comportamentais do teste de Campo Aberto. O nível de significância foi baseado em valores de p inferior a 0,05 ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DE PERDA POR SECAGEM

A determinação da perda de água e/ou substâncias voláteis nas folhas *Mimosa caesalpiniiifolia* foi feita segundo a metodologia descrita por Oliveira e Petrovick (2010), em que cerca de 8 g do material vegetal foram colocados para secagem em estufa a 45°C e a massa total foi monitorada em balança analítica, de 6 em 6 horas, até que as folhas adquirirem peso constante, após 3 pesagens consecutivas. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Perda percentual de água e/ou substâncias voláteis dos materiais vegetais de *Mimosa caesalpiniiifolia*, após o tempo de secagem

Material vegetal	Massa inicial (g)	Massa final (g)	Perda percentual (%)
Folha <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	7,845	2,830	63,93%

Fonte: Do autor (2022).

Após o tempo de 72 horas, obteve-se um peso constante do material vegetal de 2,83 g. A perda percentual de massa, por secagem, foi igual a 63,93%, o que indica uma redução de mais da metade do peso inicial das folhas.

A importância da perda de água relaciona-se diretamente à qualidade microbiológica e química da matéria-prima vegetal destinada à produção de extratos. Os teores residuais de água favorecem o crescimento de bactérias e fungos, que podem utilizar dos metabólitos secundários existentes no vegetal para a produção de substâncias essenciais ao seu crescimento. Estudos mostram que as condições de secagem podem afetar o valor da atividade antioxidante e o conteúdo de substâncias fenólicas de plantas medicinais. Deste modo deve-se considerar também a estabilidade química, representada principalmente pelos processos de hidrólise, que podem degradar os metabólitos secundários presentes na composição do material vegetal (PEIXOTO, 2012, YAZAR; DEMIRAY, 2023).

Sob o ponto de vista tecnológico, é importante entender o conteúdo de água e/ou substâncias voláteis em um extrato vegetal, para que este valor seja considerado nos cálculos de rendimento. Assim, a determinação da perda por secagem é um

ensaio de elevada relevância para a produção de extratos e, portanto, deve ser adequadamente avaliado na seleção das operações produtivas, na manipulação e nas condições de armazenamento do material vegetal e da embalagem (ARORA; ARORA; KAUR, 2023).

5.2 DETERMINAÇÃO DA GRANULOMETRIA

Foi feita a análise granulométrica dos pós que foram obtidos das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Os resultados estão apresentados na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3 - Cálculo do tamanho médio das partículas das folhas pulverizadas de *Mimosa caesalpiniiifolia*

Material vegetal	Abertura do tamis (µm)	Abertura média (µm)	Peso de amostra retido* (%)	% retida x abertura média / 100
Folha <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i> Benth.	0**	125,00	58,59	73,24
	250	302,50	21,50	65,04
	355	427,50	12,98	55,49
	500	605,00	5,60	33,88
	710	780,00	1,02	7,96
	850	850,00	0,30	2,55
Tm = $[\sum (\% \text{retida} \times \text{abertura média})] / 100$				238,16 µm

Fonte: Do autor (2022).

Legenda: Tm – tamanho médio de partícula. *Média de três determinações; **Fundo coletor.

Com base nos dados da Tabela 3, calculou-se o tamanho médio da partícula, através da equação de Ansel, Popovich e Allen Jr (2000), e o tamanho médio encontrado para as partículas do pó vegetal foi de 238,16 µm.

A granulometria de pós, juntamente com outras propriedades físico-químicas, interfere diretamente na qualidade do processo extrativo e do produto final. O pó grosso, moderadamente grosso e semifino são considerados, de acordo com a literatura, como os ideais para a produção de extratos. Isto se deve exclusivamente às características das partículas formadas a partir da moagem do material vegetal. O pó que foi citado, apresenta tamanho de partícula intermediário e perfil homogêneo,

favorecendo uma melhor penetrabilidade do solvente dentro da célula vegetal e, por conseguinte, um maior rendimento extrativo. Além disso, apresenta menor retenção de umidade, diminuindo a formação de aglomerados (MENDEZ *et al.*, 2011).

5.3 SECAGEM POR ASPERSÃO (SECAGEM POR ATOMIZAÇÃO)

A técnica de secagem por aspersão foi avaliada neste estudo em substituição a técnica de secagem por liofilização que foi empregada em estudos anteriores por nosso grupo de pesquisa para a obtenção do extrato seco obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*.

Para preservar as características físico-químicas e as substâncias bioativas presente no extrato, utilizou como estratégia durante a etapa de secagem por aspersão com adição do aerosil 200® (dióxido de silício coloidal). Os compostos bioativos, principalmente os compostos fenólicos, que são encontrados na folha de *Mimosa caesalpinifolia* são facilmente propensos a fenômenos de degradação, sendo sensíveis a múltiplos fatores ambientais, como temperatura, pH, umidade, luz e oxigênio, que limita muito seu campo de aplicação (SILVA *et al.*, 2014, 2018). A técnica de secagem por aspersão possibilitou a obtenção do extrato com características tecnológicas adequadas e a utilização do adjuvante de secagem (aerosil 200®) reduziu a umidade residual e incrementou qualidade no extrato obtido.

A técnica de secagem por aspersão se mostrou eficiente para obtenção do extrato seco obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*. Comparada à secagem por liofilização, a técnica de aspersão mostrou ser um processo simples, com maior taxa de processamento. Além disso, a atomização é escalável e pode produzir pós adequados para serem processados, tudo em único processo, sem a necessidade de moagem ou outro tipo de processamento secundário.

5.4 RENDIMENTOS DO EXTRATO SECO E DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA OBTIDA DO EXTRATO SECO DAS FOLHAS DE *Mimosa caesalpinifolia*

Os rendimentos do extrato seco e da fração acetato de etila obtida do extrato seco estão apresentados nas Tabelas 4 e 5 respectivamente.

Tabela 4 - Rendimentos do extrato seco obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*

Material	Quantidade inicial de folha seca (g)	Quantidade de extrato seco (g)	Rendimento (%)
Folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	82,35	27,45	33,33

Fonte: Do autor (2022).

Tabela 5 - Rendimentos da fração acetato de etila obtida do extrato seco de *Mimosa caesalpinifolia*

Material	Quantidade inicial de extrato seco (g)	Quantidade de fração acetato de etila (g)	Rendimento (%)
Folhas de <i>Mimosa caesalpinifolia</i>	15,00	2,95	19,67

Fonte: Do autor (2022).

Dentre as amostras preparadas (extrato seco e fração acetato de etila), o extrato seco obtido por percolação, foi o que apresentou maior rendimento (33,33%). Isso sugere que os compostos majoritários presentes nesse extrato sejam os mais polares, já que o solvente utilizado (etanol 70%) apresenta um grau de polaridade suficiente para extrair tais compostos.

O reagente usado na preparação da fração acetato de etila, apresenta uma polaridade intermediária que favorece a extração de compostos como agliconas de flavonoides e ácidos fenólicos de baixo peso molecular e terpenos (RODRIGUES; GONÇALVES; SILVA, 2004; PATEL *et al.*, 2016).

De acordo com o trabalho de quantificação de polifenóis de Silva *et al.*, (2012) as folhas de *Mimosa caesalpinifolia* possuem 651 mg/g no extrato seco, enquanto a fração acetato de etila possui uma quantidade de teor maior (721 mg/g), estando esses valores dentro do esperado conforme relatos na literatura para outras espécies da Mimosaceae. Com relação aos flavonoides totais, há maior quantidade na fração acetato de etila, sendo 531 mg/g, enquanto há um menor teor desta classe de compostos com 355 mg/g no extrato seco.

A escolha por trabalhar com o estudo farmacológico da fração acetato de etila obtida do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* foi devido ao alto teor de

compostos polifenólicos e atividade biológica que foram relatados em trabalhos anteriores.

A presença de compostos polifenólicos, como flavonoides, fenóis e taninos presentes em uma determinada parte de uma espécie vegetal, tornam a planta uma boa fonte de fitoquímicos com atividades significativas na eliminação de radicais livres, podendo ser úteis no manejo de doenças relacionadas ao estresse oxidativo como a inflamação (AMAH *et al.*, 2022).

De acordo com a literatura os polifenóis, com um monômero básico de anel fenólico e classificados como ácidos fenólicos e álcoois fenólicos, são encontrados para modular a atividade e expressão de importantes moléculas sinalizadoras envolvidas em vias inflamatórias na depressão (CARACCI *et al.*, 2020; DAI *et al.*, 2022).

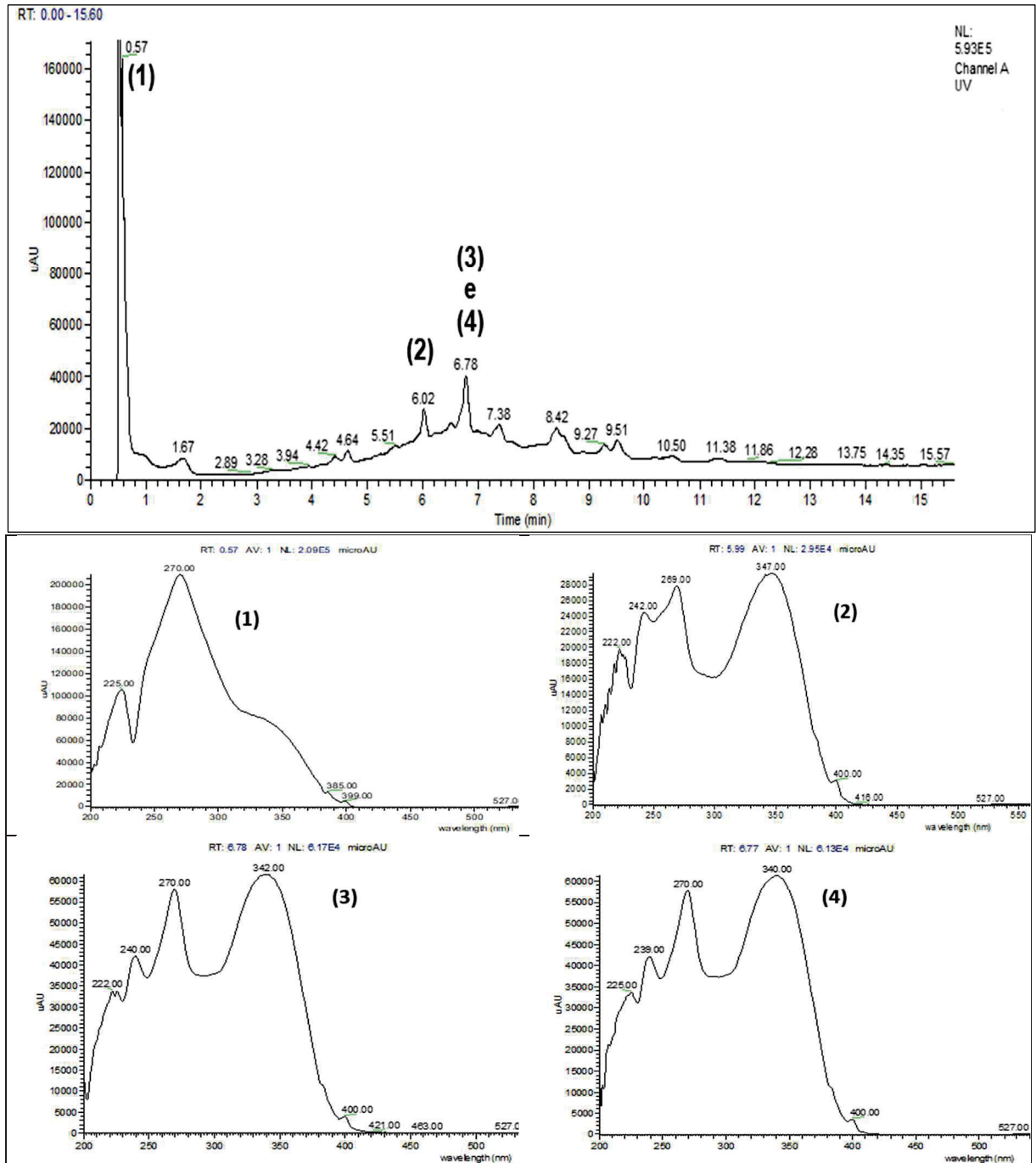
5.5 PERFIL QUÍMICO

5.5.1 *Fingerprint* por HPLC-PDA

Os cromatogramas da composição química da matriz obtido pela análise por HPLC-UV-DAD sugerem a presença de flavonoides e ácidos fenólicos pela presença de espectros com bandas características dessas classes em todas as amostras analisadas.

A análise dos espectros de absorção no ultravioleta forneceu informações importantes inicialmente para sinalizar o perfil químico do extrato seco e da fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. Os compostos com tempo de retenção em aproximadamente 0,6 minutos, apresentaram espectros UV com máximo de absorção em 270 nm (figura 6(1)) característico da classe de compostos fenólicos como, por exemplo, o ácido gálico que apresenta um único pico de absorção em 271 nm.

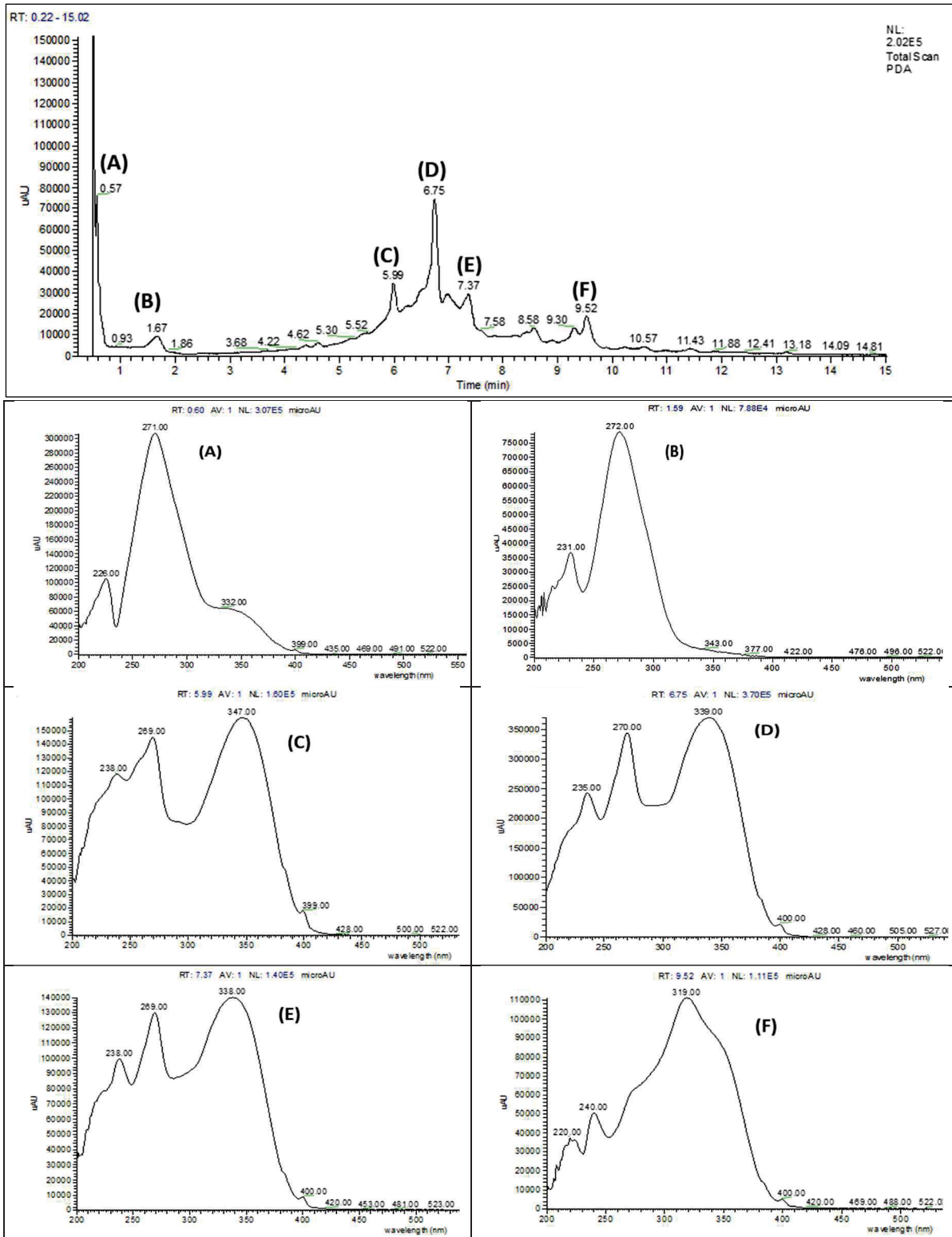
Figura 6 - Perfil cromatográfico adquirido pela análise por HPLC-UV-DAD do extrato seco obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*. Derivados de ácidos fenólicos (1) e flavonoides (2), (3) e (4).



Fonte: Do autor (2022).

A figura 6 demonstra o cromatograma de separação dos constituintes químicos presentes no extrato seco obtido das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* e os espectros com os máximos de absorção no ultravioleta de 4 compostos avaliados.

Figura 7 - Perfil cromatográfico adquirido pela análise por HPLC-UV-DAD da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*. Derivados de ácidos fenólicos (A e B) e flavonoides (C, D, E e F).



Fonte: Do autor (2022).

A figura 7 demonstra o cromatograma de separação dos constituintes químicos presentes na fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* e os espectros dos máximos de absorção no ultravioleta de 6 compostos avaliados.

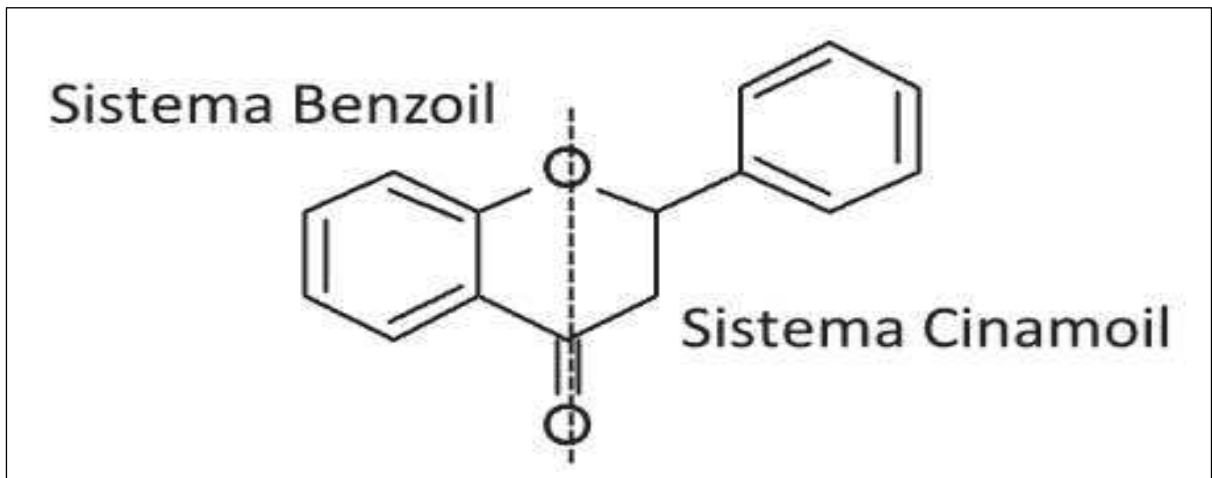
As figuras 6 e 7 mostram os cromatogramas da composição química da matriz obtido pela análise por HPLC-UV-DAD, avaliada pelo número de picos eluídos ao longo da corrida cromatográfica. Análise dos espectros no ultravioleta dos picos sugere a presença de flavonoides e ácidos fenólicos pela presença de espectros com bandas características dessas classes em todas as amostras analisadas.

A análise dos espectros de absorção no ultravioleta forneceu informações importantes inicialmente para sinalizar o perfil químico do extrato seco e da fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia*. Os compostos com tempo de retenção em aproximadamente 0,6 minutos, apresentaram espectros UV com máximo de absorção em 270 nm (Figura 7 (1) e Figura 7 (A e B)), característico da classe de compostos fenólicos como, por exemplo, o ácido gálico que apresenta um único pico de absorção em 271 nm. Derivados de ácido gálico apresentam um único pico de absorção referente ao sistema benzílico, com máximo na região do UV variando entre 260-280 nm (FRANCO *et al.*, 2016).

Os compostos 2, 3 e 4 (Figura 6) e C, D, E e F (Figura 7) apresentaram espectros UV com dois máximos de absorção entre 240-290 nm e 300-390 nm, indicando a presença de flavonoides.

Os flavonoides devido a sua estrutura química apresentam duas bandas de absorção do espectro eletromagnético na região visível correspondentes aos dois sistemas aromáticos presentes em agliconas, sendo que a banda II, com máximo na faixa espectral de 240-290 nm, é atribuída ao anel A do flavonoide que possui o sistema benzoil com menor extensão da conjugação eletrônica. Enquanto a banda I apresenta máximo na faixa espectral de 300-390 nm atribuída ao anel B que possui o sistema cinamoil com maior extensão das ligações conjugadas (Figura 8). Flavonas, flavonóis e flavonóis glicosilados são usualmente detectados em comprimento de onda de 270 nm, 365 nm ou 370 nm, embora detecção em 280 e 350 nm tem sido usada. Quanto maior a extensão da conjugação eletrônica, menor será a energia absorvida pelo sistema e, portanto, maior será o comprimento de onda absorvido (HUBER; RODRIGUES-AMAYA, 2008).

Figura 8 - Estrutura geral de um flavonoide, com os anéis A e B em destaque e seus sistemas benzoil e cinamoil



Fonte: Adaptado de HIRUMA-LIMA *et al.*, 2017.

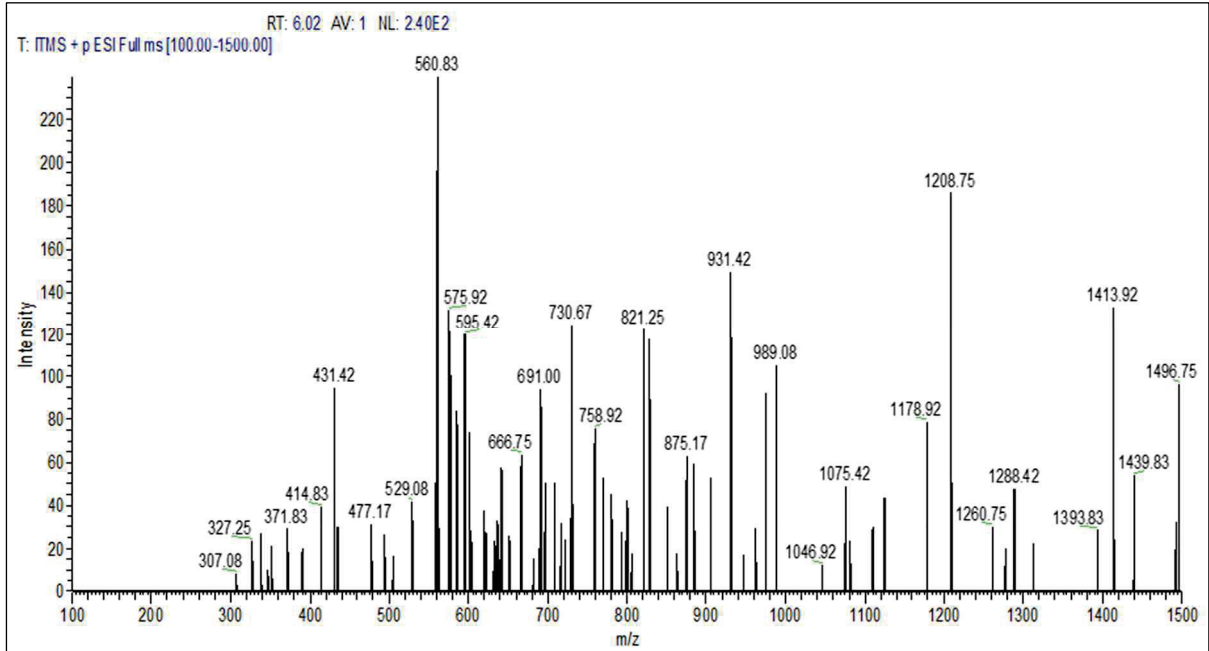
A partir dos máximos obtidos em alguns cromatogramas apresentados nas figuras 6 e 7 que são característicos de flavona glicosídica e dos resultados de Silva *et al.* (2012), podemos evidenciar que as atividades farmacológicas atribuídas ao extrato seco e a fração acetato de etila deve-se à concentração de flavonoides e compostos fenólicos, que de acordo com relatado em literatura é maior na fração acetato de etila do que no extrato seco. Por conseguinte, a explicação para esses resultados obtidos é devido a menor polaridade do solvente extrator, ficando assim as agliconas dos flavonoides concentradas na fração.

5.5.2 Espectrometria de massas

Neste estudo buscou-se identificar alguns compostos fenólicos presentes no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpinifolia* Benth. utilizando ionização por electrospray no modo negativo acoplada a um espectrômetro de massa. Este método fornece informações qualitativas sobre a constituição da matriz avaliada de forma rápida e direta.

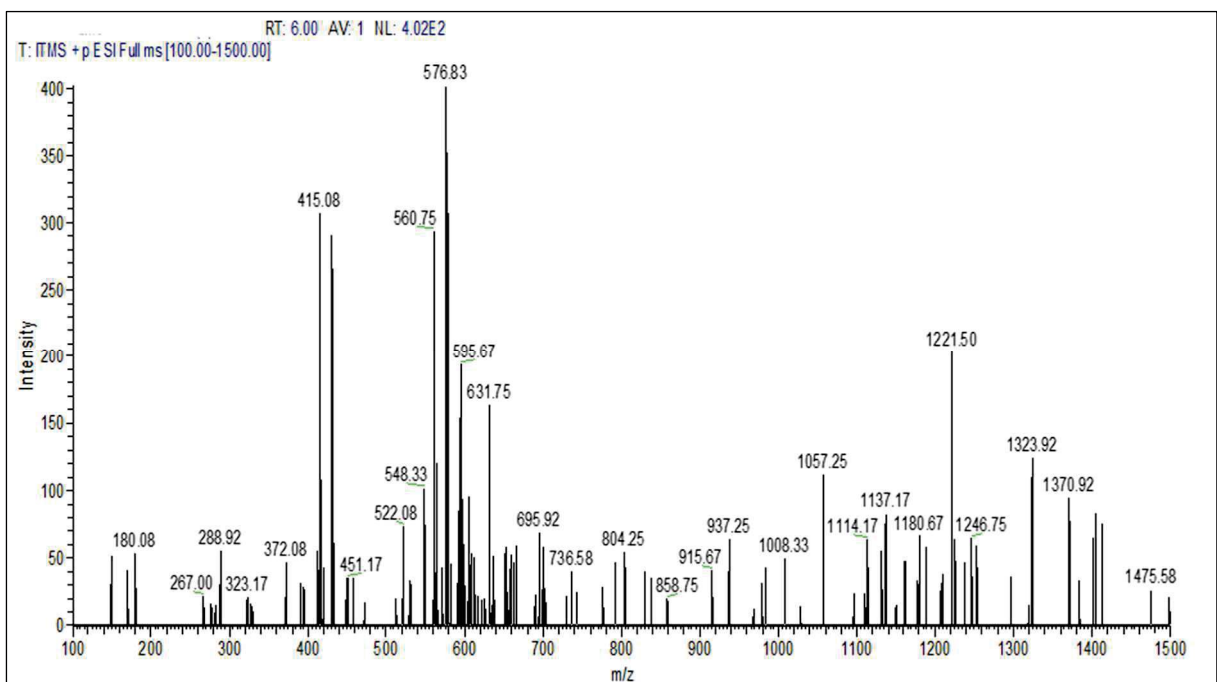
As figuras 9 e 10 mostram os espectros de massas em *full scan* do extrato seco e da fração acetato de etila respectivamente, evidenciando os íons precursores das moléculas desprotonadas ($[M-H]^-$). As fragmentações para cada um dos íons levaram a identificação dos metabólitos.

Figura 9 - Espectro de massas de primeira-ordem, em modo *full-scan* do extrato seco de *Mimosa caesalpinifolia* no modo negativo. Presença de derivados de catequinas.



Fonte: Do autor (2022).

Figura 10 - Espectro de massas de primeira-ordem, em modo *full-scan* da fração acetato de etila obtido do extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* no modo negativo. Presença de catequinas ($C_{15}H_{14}O_6$; PM: 290) e seus derivados



Fonte: Do autor (2022).

Flavonoides e outros compostos fenólicos foram identificados por ESI-MS/MS e HPLC-DAD no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpinifolia*. Os picos foram detectados no cromatograma de íons extraídos e três dos compostos tiveram sua estrutura determinada onde foram atribuídos como catequina (m/z 288,97), cassiaocidentalina A (m/z 560,75) e procianidina B2 [(epi)catequina–(epi)catequina; m/z 576,83)]. O presente trabalho confirmou a presença de flavonoides no extrato seco e na fração acetato de etila, conforme relatado em trabalho do nosso grupo de pesquisa anteriormente (SILVA *et al.*, 2014). Os dados estão de acordo com trabalhos publicados sobre diferentes espécies do gênero *Mimosa* que descreveram a presença de flavonoides que são responsáveis por diferentes atividades biológicas, incluindo atividade anti-inflamatória.

A presença de compostos polifenólicos, como flavonoides, fenóis e taninos presentes em uma determinada parte de uma espécie vegetal, tornam a planta uma boa fonte de fitoquímicos com atividades significativas de eliminação de radicais livres e podem ser úteis no manejo de doenças relacionadas ao estresse oxidativo como a inflamação (AMAH *et al.*, 2022).

De acordo com a literatura, os polifenóis, com um monômero básico de anel fenólico e classificados como ácidos fenólicos e álcoois fenólicos, são encontrados para modular a atividade e expressão de importantes moléculas sinalizadoras envolvidas em vias inflamatórias na depressão (CARACCI *et al.*, 2020; DAI *et al.*, 2022).

Os compostos identificados de *Mimosa caesalpinifolia* por espectrometria de massas são fornecidos na Tabela 6.

Tabela 6 - Compostos químicos anotados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila obtidos das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* (continuação)

$[M-H]^-$ m/z	Fragmentação m/z	Compostos químicos
169.0	125 $[M-CO_2-H]^-$	ácido gálico
183.0	125	galato de metila
197.0	125	galato de etila

Tabela 7 - Compostos químicos anotados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila obtidos das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* (conclusão)

[M-H]⁻ m/z	Fragmentação m/z	Compostos químicos
269.1	179	Apigenina
289.1	245 [M-CH ₂ CHOH-H] ⁻	Catequina
297.0	267 [M-30] ⁻ , 251, 227, 175	5-hidroxi-4',7-dimetoxi-flavona
301.0	179	Quercetina
325.2	289 [M-2H ₂ O-H] ⁻ , 183	catequina hidratada
341.1	179 [M-162-H] ⁻ , 161 [M-162-H ₂ O-H] ⁻ , 143 [M-162-2H ₂ O-H] ⁻ , 113 [M-162-H ₂ CO-H] ⁻	ácido cafeico + hexosídeo
433.1	301 [M-132-H] ⁻	quercetina-O-pentosídeo
447.1	301 [M-146-H] ⁻ , 285 [M-162-H] ⁻	kaempferol-3-O-hexosídeo
463.1	301 [M-162-H] ⁻	quercetina-O-hexosídeo
559.1	397, 413, 321, 284	Cassiaocidentalina A
575.1	-	Dímero de procianidina tipo A
577.1	-	Dímero de procianidina tipo B
593.1	575, 561, 547, 502, 447, 429, 411, 383, 357, 285	vicenin-2
609.1	301 [M-308-H] ⁻	quercetina-3-O-rutinosídeo

Fonte: Do autor (2022).

De acordo com a literatura, todos estes flavonoides listados acima apresentam propriedades antioxidantes e permitem a proteção do organismo contra os radicais livres. Além disso, os flavonoides causam uma diminuição na adesão das células inflamatórias ao subendotélio e, portanto, induzem uma diminuição na resposta

inflamatória. A inibição da atividade da peroxidase é outro benefício dos flavonóides, que permite a prevenção de espécies reativas de oxigênio (DALLI *et al.*, 2021).

Entre os compostos fenólicos extraídos do extrato seco e da fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpinifolia* (Tabela 6), podemos citar o ácido gálico, galato de metila, galato de etila, catequina, quercetina, apigenina, rutina, cassiaocidentalina A, 5-hidroxi-4',7-dimetoxi-flavona, dentre outros.

Figura 11 - Estrutura dos compostos químicos identificados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpinifolia* (continuação)

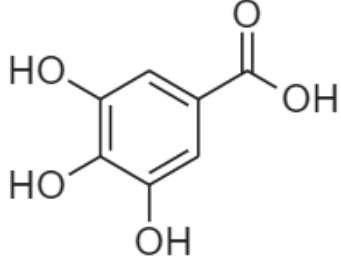
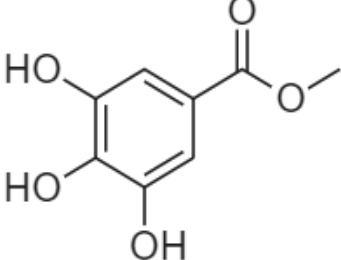
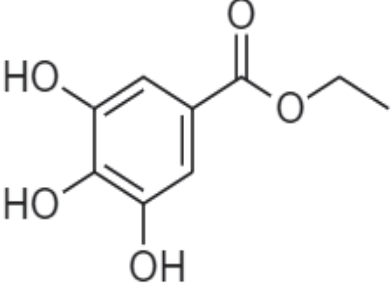
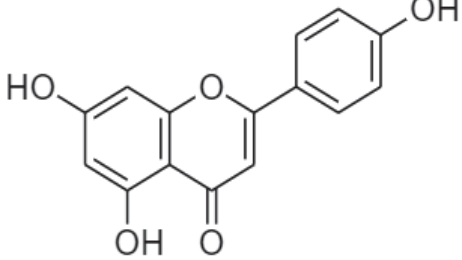
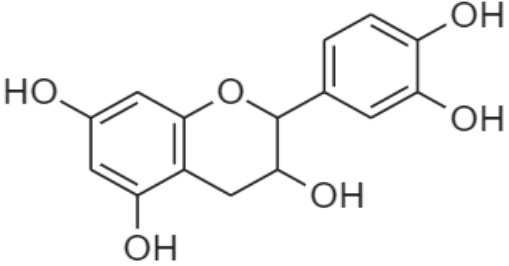
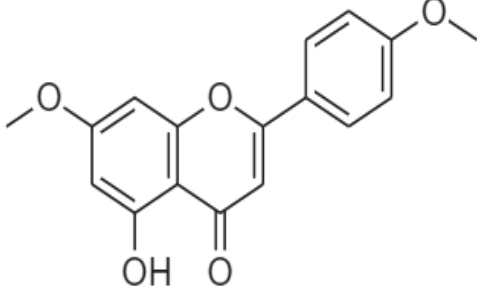
1 - Ácido gálico	2 - Galato de metila
	
3 - Galato de etila	4 - Apigenina
	
5 - Catequina	6 - 5-hidroxi-4',7-dimetoxi-flavona
	

Figura 12 - Estrutura dos compostos químicos identificados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpinifolia* (continuação)

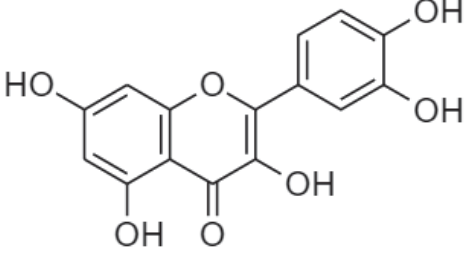
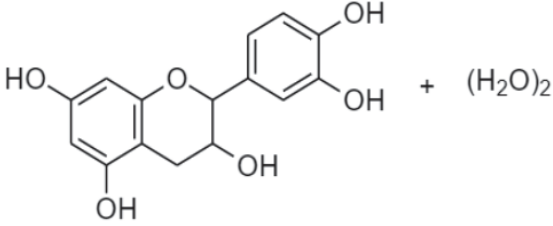
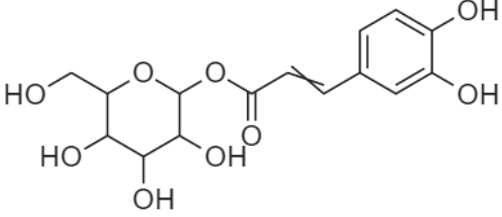
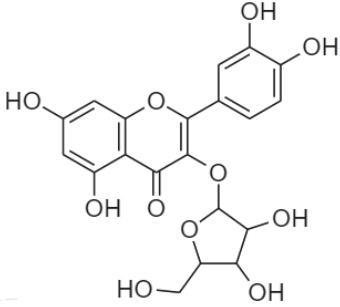
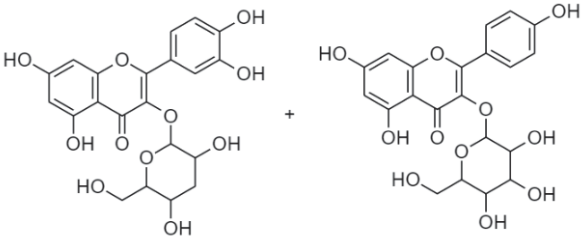
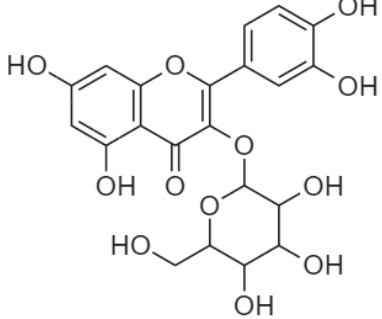
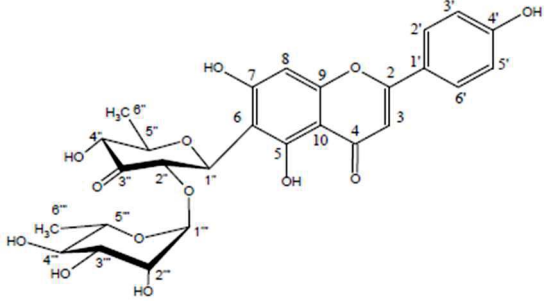
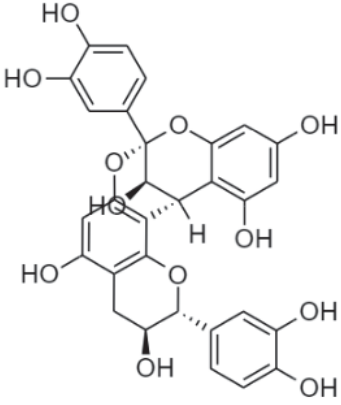
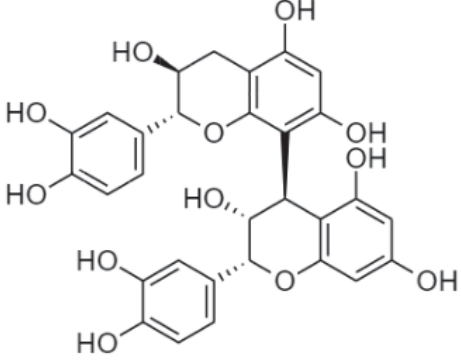
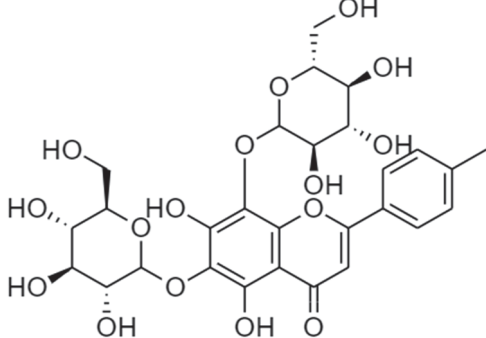
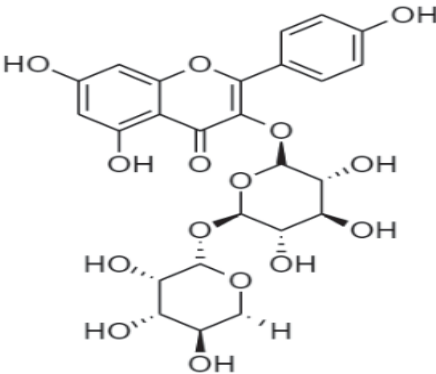
7 - Quercetina	8 - Catequina hidratada
	
9 - Cafeoil hexosídeo	10 - Quercetina-O-pentosídeo
	
11 - Kaempferol-3-O-hexosídeo	12 - Quercetina-O-hexosídeo
	

Figura 13 - Estrutura dos compostos químicos identificados pelos experimentos de espectrometria de massas no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpinifolia* (conclusão)

13 - Cassiaocidentalina A	14 - Dímero de procianidina tipo A
	
15 - Dímero de procianidina tipo B	16 - Vicenin-2
	
17 - Quercetina-3-O-rutinosídeo	
	

Fonte: Do autor (2022).

Vários estudos relataram que o ácido gálico é um potencial composto terapêutico para o controle da neuroinflamação. Tanto estudos *in vivo* quanto *in vitro* evidenciaram fortemente que a atividade neuroinflamatória do ácido se deve à sua capacidade de inibir citocinas inflamatórias (BHUIA *et al.*, 2023).

5.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE FARMACOLÓGICA

5.6.1 Campo aberto

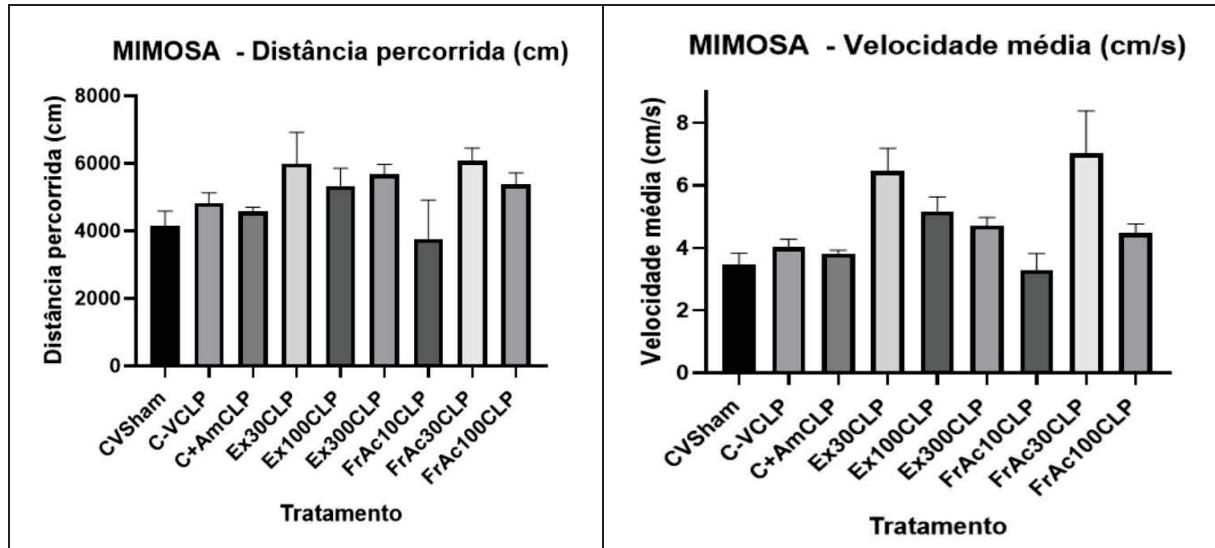
Modelos animais contribuem para a compreensão do mecanismo patológico e descoberta de novas drogas para as doenças (DAI *et al.*, 2022). O teste de campo aberto permitiu avaliar a atividade exploratória, ou seja, a capacidade locomotora espontânea, fornecendo indícios do estado emocional dos roedores.

A seguir, a figura 12 mostra o desempenho comportamental em animais submetidos ao teste de campo aberto 14 dias após a indução da sepse por ligação e perfuração cecal e 7 dias após receberem tratamento. Não observamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos SHAM e CLP, quanto aos parâmetros distância percorrida e velocidade média em nenhuma das concentrações de extrato seco e da fração acetato de etila avaliada.

Os movimentos dos animais e seu instinto exploratório tem ligação com a atividade central ou periférica do animal. O tratamento com o extrato seco nas doses de 30, 100 e 300 mg/Kg e da fração acetato de etila realizado nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg não alterou significativamente a atividade locomotora no teste de campo aberto 14 dias após a cirurgia e 7 dias após tratamento.

Os animais tratados com a fração acetato de etila na concentração de 100 mg/Kg tiveram uma pequena redução da distância percorrida e da velocidade média quando comparado ao grupo controle SHAM, porém, essa redução não foi estatisticamente significativa a ponto de ser considerado.

Figura 14 - Desempenho comportamental (distância percorrida em cm e velocidade média em cm/s) em animais 14 dias após a cirurgia e 7 dias após tratamento, ao serem submetidos pelo teste de campo aberto



Fonte: Do autor (2022).

Estatística: ANOVA. Distância percorrida (cm) e velocidade média (cm/s) no teste do campo aberto, camundongos tratados com o extrato seco e a fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia*. Os resultados expressam as médias \pm DM. Significância $p > 0,05$ em relação ao veículo.

Modelos animais contribuem para a compreensão do mecanismo patológico e descoberta de novas drogas para as doenças (DAI *et al.*, 2022). Deste modo, o teste de campo aberto permitiu avaliar a atividade exploratória, ou seja, a capacidade locomotora espontânea, fornecendo indícios do estado emocional dos roedores.

Os movimentos dos animais e seu instinto exploratório tem ligação com a atividade central ou periférica do animal. Como observado na figura 12 é possível verificar que não houve diferença em nenhum dos grupos tratados com o extrato seco e fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* em relação ao grupo controle.

Visto os resultados já observados em literatura sugere que a atividade anti-inflamatória do extrato e sua fração acetato de etila possa estar mais ligado à ação periférica do que à ação ao nível do sistema nervoso central (DE LIMA *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2018, 2014). Deste modo, novos testes para avaliação farmacológica do extrato que vise mais ação periférica são necessários.

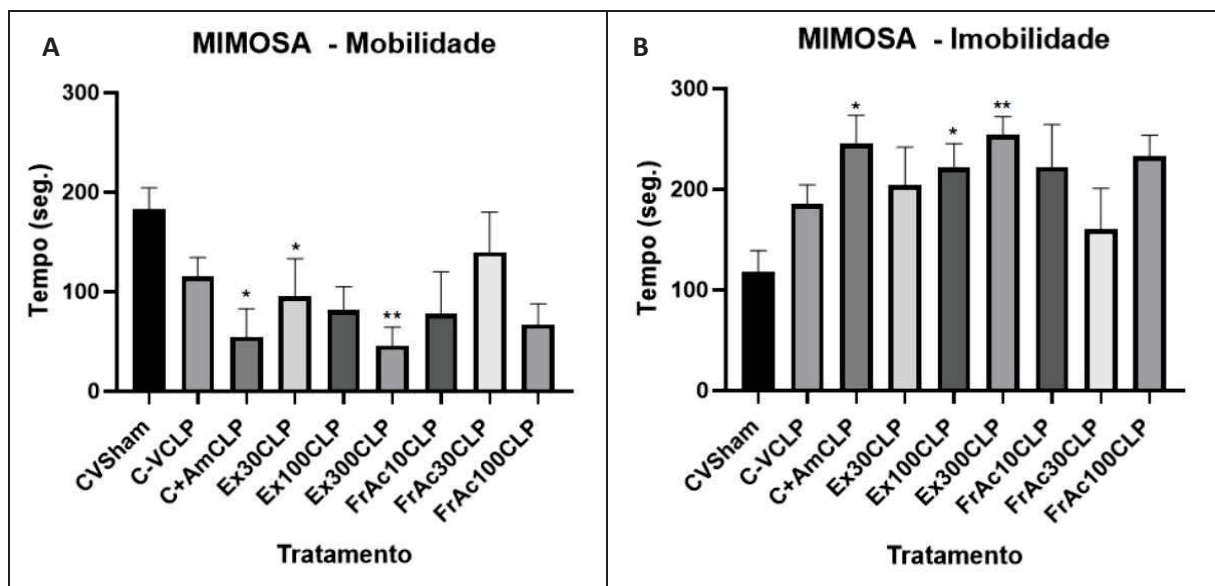
Os grupos que passaram por tratamento tiveram uma atividade locomotora agravada. Isso demonstra que o comportamento do tipo depressivo que foi

acentuado após o tratamento observado no teste de campo aberto dificulta maiores conclusões sobre a atividade farmacológica avaliada, sendo imprescindível a busca por novas hipóteses.

5.6.2 Nado forçado

A análise do teste de nado forçado revelou que o tratamento com o extrato seco e com a fração acetato de etila aumentou o tempo de imobilidade (figura 13A) e reduziu os tempos de natação (figura 13B) quando comparado ao grupo controle SHAM. O tratamento com o extrato seco e sua fração acetato de etila não foi capaz de prevenir o comportamento do tipo depressivo, ou seja, os resultados observados com o teste de nado forçado foram semelhantes aos resultados de campo aberto onde não foram estatisticamente significativos.

Figura 15 - Tempo em segundos que os animais após 14 dias após a cirurgia e 7 dias após tratamento, ao serem submetidos ao teste de nado forçado (n=8)



Fonte: Do autor (2022).

Estatística: ANOVA. Tempo de mobilidade e imobilidade (segundos) no teste de nado forçado, camundongos tratados com o extrato seco e a fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia*. Os resultados expressam as médias \pm DM. Significância * $p > 0,05$; ** $p > 0,01$ em relação ao veículo

Estudos de Doron, (2015) mostraram que a administração de antidepressivos anteriormente ao teste, possibilita a redução do comportamento do tipo depressivo nos animais, ou seja, diminui o tempo em que eles permanecem boiando. Este fato

é de extrema importância quando comparado a humanos, tendo em vista que pacientes depressivos muitas vezes possuem letargia.

Nos animais submetidos ao tratamento com o extrato seco e a fração acetato de etila obtidos das folhas de *Mimosa caesalpinifolia*, foi possível observar a forte influência da inflamação crônica mobilizando os comportamentos do tipo depressivo: o teste de nado forçado demonstrou que animais SHAM nadaram mais e boiaram menos que animais CLP, sugerindo uma super ativação de vias noradrenérgicas frente a uma memória de medo, luta ou fuga. O que não pode ser observado em animais CLP, sugerindo dessa forma, a indução do comportamento de perda de interesse, ou seja, do tipo depressivo. Além disso, estes dados corroboram com os estudos de Assis, (2018) em que também se observam mudanças comportamentais em animais 10 dias após CLP, demonstrando um aumento significativo no tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Dessa forma, após 14 dias de cirurgia, não foi possível observar através do teste de nado forçado alterações comportamentais significativas nos animais tratados com a fração e o extrato seco nas diferentes concentrações.

Os grupos que passaram por tratamento tiveram uma atividade locomotora agravada. Isso demonstra que o comportamento do tipo depressivo que foi acentuado após o tratamento observado no teste de campo aberto, dificulta maiores conclusões sobre a atividade farmacológica avaliada sendo imprescindível a busca por novas hipóteses ou emprego de uma nova metodologia de estudo para avaliação, visto que, o grupo controle positivo também não demonstrou resultados significativos.

6 CONCLUSÃO

A análise granulométrica, obtida das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia*, permitiu estabelecer especificações de qualidade, servindo de referência para assegurar a reprodutibilidade de estudos posteriores.

Para preservar as características físico-químicas e as substâncias bioativas presente no extrato, utilizou como estratégia durante a etapa de secagem por *spray drying* a adição do carreador aerosil 200[®] (dióxido de Silício Coloidal). A técnica de secagem por *spray drying* possibilita a obtenção de extratos com características tecnológicas adequadas para um produto com maior qualidade. A utilização do adjuvante (aerosil 200[®]) de secagem incrementou a qualidade e o rendimento obtido do extrato seco.

O extrato seco das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth., obtido por percolação, apresentou um rendimento (33,33%), enquanto a fração acetato de etila obtida através do extrato seco das folhas desta espécie resultou em um menor rendimento (19,67%).

Neste estudo buscou-se identificar alguns compostos fenólicos presentes no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. utilizando ionização eletrospray acoplada a um espectrômetro de massa. Este método fornece informações moleculares e estruturais para identificação química.

Em geral, os principais grupos fenólicos presentes no extrato seco e na fração acetato de etila de *Mimosa caesalpiniiifolia* foram os ácidos fenólicos, flavonoides agliconas e glicosídeos, além dos taninos. A identificação dos constituintes químicos foi realizada com base em dados de espectros de massa adquiridos com diversas investigações fitoquímicas de metabólitos secundários relatadas na literatura.

O teste de campo aberto e nado forçado permitiu a avaliação da atividade depressora do extrato seco e da fração acetato de etila das folhas de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Através dos resultados encontrados com estes ensaios foi possível prever que a atividade farmacológica do extrato e da fração não foi efetiva nos ensaios comportamentais avaliados.

Em função dos resultados encontrados com o estudo químico, pode-se concluir que a espécie vegetal *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. apresenta metabólitos secundários com potenciais atividades farmacológicas. Por outro lado, há necessidade de mais estudos detalhados sobre a farmacologia para fornecer uma

melhor compreensão da espécie vegetal estudada como fonte de potenciais medicamentos.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P. de; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678–689, dez. 2006.
- ALMEIDA, R. de; HENNA NETO, J.; SILVA, E. E. P. DA. Efeito comportamental em modelos experimentais de depressão por microinjeções do peptídeo liberador de gastrina via intra nucleus accumbens. **Debates em Psiquiatria**, v. 11, p. 1–26, 3 dez. 2021.
- AMAH, C. C. *et al.* Ethyl acetate fraction of *Fagara zanthoxyloides* root-bark possess antidiabetic property against alloxan-induced diabetes and its complications in *Wistar* rat model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 293, p. 115259, July 2022.
- ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JR, L.V. **Farmacotécnica**: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Premier, 2000. 177 p.
- ANTUNES-RICARDO, M. *et al.* Topical Anti-Inflammatory Effects of Isorhamnetin glycosides isolated from *Opuntia ficus-indica*. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1–9, 2015.
- ANVISA. **Farmacopeia brasileira**. 6. ed. Brasília, 2019. v. 1, p. 113.
- ARORA, M.; ARORA, K.; KAUR, R. Pharmacognostic, physicochemical, phytochemical, nutraceutical evaluation and in vitro antioxidant potency of *Habenaria intermedia* D. don a rare orchid. **South African Journal of Botany**, v. 152, p. 278–287, January 2023.
- ARUMUGAM, S.; WATANABE, K. **Japanese kampo medicines for the treatment of common diseases**: focus on inflammation. London: Academic Press, 2017. 222 p.
- ASHRAFI, S. *et al.* Prospective Asian plants with corroborated antiviral potentials: position standing in recent years. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 11, n. 1, p. 47, December 2022.
- ASSIS, M. S. *et al.* Effects of caffeine on behavioural and cognitive deficits in rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 123, n. 4, p. 435–442, Oct. 2018.
- BARICHELLO, T. *et al.* Behavioral deficits in sepsis-surviving rats induced by cecal ligation and perforation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 6, p. 831–837, June 2007.
- BASSANI, A. *et al.* Modeling of a spray-drying process for the encapsulation of high-added value extracts from food by-products. **Computers & Chemical Engineering**, v. 161, p. 107-772, May 2022.

- BHAT, B. A. *et al.* Metabolite fingerprinting of phytoconstituents from *Fritillaria cirrhosa* D. don and molecular docking analysis of bioactive peonidin with microbial drug target proteins. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 7296, Dec. 2022.
- BHATTACHARYA, S. Medicinal plants and natural products in amelioration of arsenic toxicity: a short review. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 349–354, 1 Jan. 2017.
- BHUIA, S. *et al.* Neurobiological effects of gallic acid: current perspectives. **Chinese Medicine**, v. 18, n. 1, p. 27, Mar. 2023.
- BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C. The G115 standardized ginseng extract: an example for safety, efficacy, and quality of an herbal medicine. **Journal of Ginseng Research**, v. 44, n. 2, p. 179–193, Mar. 2020.
- BLOMQUIST, A.; ENGBLOM, D. Neural mechanisms of inflammation-induced fever. **The Neuroscientist**, v. 24, n. 4, p. 381–399, Aug. 2018.
- BRUNA, N. *et al.* Molecules assessing chemical constituents of *Mimosa caesalpiniiifolia* stem bark: possible bioactive components accountable for the cytotoxic effect of *M. caesalpiniiifolia* on human tumour cell lines. **Molecules**, v. 20, p. 4204–4224, 2015.
- BURAS, J. A.; HOLZMANN, B.; SITKOVSKY, M. Animal models of sepsis: setting the stage. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 4, n. 10, p. 854–865, Oct. 2005.
- CARLESSI, A. S. *et al.* Gut microbiota–brain axis in depression: the role of neuroinflammation. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 1, p. 222–235, Jan. 2021.
- CARACCI, F. *et al.* Grape-derived polyphenols ameliorate stress-induced depression by regulating synaptic plasticity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 7, p. 1808–1815, Feb. 2020.
- CHOWDARY NANDIPATI, M. N. *et al.* Antitumor activity of *Mimosa rubicaulis* lam against ehrlich ascites carcinoma in swiss albino mice. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 5, n. 4, p. 1514, 2014.
- CINEL, I.; OPAL, S. M. Molecular biology of inflammation and sepsis: A primer. **Critical Care Medicine**, v. 37, n. 1, p. 291–304, Jan. 2009.
- COLALTO, C. What phytotherapy needs: evidence-based guidelines for better clinical practice. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 3, p. 413–425, Mar. 2018.
- CRUZ, M. P. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanolic extract, fractions and flavones isolated from *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poir (Leguminosae). **Plos One**, v. 11, n. 3, p. 1-29, Mar. 2016.

- DAI, W. *et al.* Natural products for the treatment of stress-induced depression: pharmacology, mechanism and traditional use. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 285, p. 114-692, Mar. 2022.
- DALLI, M. *et al.* *Nigella sativa* L. Phytochemistry and pharmacological activities: a review (2019–2021). **Biomolecules**, v. 12, n. 1, p. 20, Dec. 2021.
- D'AMELIA, V. *et al.* The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, n. 3, p. 611–625, June 2018.
- DE LIMA, E. C. *et al.* Therapeutical properties of *Mimosa caesalpiniiifolia* in rat liver intoxicated with cadmium. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 10, p. 10981–10989, Apr. 2020.
- DE SOUZA, P. *et al.* Promising medicinal plants with diuretic potential used in Brazil: state of the art, challenges, and prospects. **Planta Medica**, v. 87, n. 01/02, p. 24–37, Feb. 2021.
- DIAS, M. C.; PINTO, D. C. G. A.; SILVA, A. M. S. Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5377, Sept. 2021.
- DIAS SILVA, M. J. *et al.* Bioassay-guided isolation of fungistatic compounds from *Mimosa caesalpiniiifolia* Leaves. **J. Nat. Prod**, v. 82, p. 1496–1502, 2019.
- DICKSON, K.; LEHMANN, C. Inflammatory response to different toxins in experimental sepsis models. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 18, p. 4341, Sept. 2019.
- FERNANDES, M. R. V. *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of *Psidium guajava* L. spray dried extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 39–44, Sept. 2014.
- FRANCO, D. M. *et al.* Seasonal variation in allelopathic potential of the leaves of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 2, p. 157–165, Mar. 2016.
- FUMAGALI, E. *et al.* Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 627–641, dez. 2008.
- FUNARI, C. S. *et al.* A trade off between separation, detection and sustainability in liquid chromatographic fingerprinting. **Journal of Chromatography A**, v. 1354, p. 34–42, Aug. 2014.

GOMES SÁ, S. H. *et al.* Evaluation of the release, stability and antioxidant activity of Brazilian red propolis extract encapsulated by spray-drying, spray-chilling and using the combination of both techniques. **Food Research International**, v. 164, p. 112-423, Feb. 2023.

GU, Y. *et al.* Total flavonoids of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) improve MC903-induced atopic dermatitis-like lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 292, p. 115-195, June 2022.

HAO, Y. *et al.* Selecting an appropriate animal model of depression. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 19, p. 4827, Sept. 2019.

HAYTA, S.; POLAT, R.; SELVI, S. Traditional uses of medicinal plants in Elazığ (Turkey). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 154, n. 3, p. 613–623, July 2014.

HIRUMA-LIMA, C. A. *et al.* **Farmacognosia**. 7. ed. São Paulo: Atheneu, 2017.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

IBRAHIM, S. R. M. *et al.* Phytoconstituents and pharmacological activities of Indian camphorweed (*Pluchea indica*): A multi-potential medicinal plant of nutritional and ethnomedicinal importance. **Molecules**, v. 27, n. 8, p. 2383, Apr. 2022.

JHA, N. *et al.* A study of cutaneous adverse drug reactions in a tertiary care center in Punjab. **Indian Dermatology Online Journal**, v. 9, n. 5, p. 299, 2018.

JIMÉNEZ, N. *et al.* Antioxidant capacity and phenolic content of commonly used anti-inflammatory medicinal plants in Colombia. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 272–279, 2015.

KANAKASABAPATHI, D.; GOPALAKRISHNAN, V. K. Effect of aqueous extract of *Passiflora edulis* on oxidative stress in liver and kidney of alloxan induced diabetic rats. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 7, n. 5, p. 967–973, 2015.

KASHANI, H. H. *et al.* Pharmacological properties of medicinal herbs by focus on secondary metabolites. **Life Science Journal**, v. 9, n. 1, p. 509–520, 2012.

KAUR, J. *et al.* Protective effect of *Mimosa pudica* L. in an l-arginine model of acute necrotising pancreatitis in rats. **Journal of Natural Medicines**, v. 70, n. 3, p. 423–434, July 2016.

LEITE, P. M.; CAMARGOS, L. M.; CASTILHO, R. O. Recent progress in phytotherapy: a Brazilian perspective. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 41, p. 101270, Jan. 2021.

MACÊDO, S. K. S. *et al.* Genus *Triplaris* (Polygonaceae): A review on traditional medicinal use, phytochemistry and biological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 277, p. 114188, Sept. 2021.

MACHADO, D. G. *et al.* Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: Involvement of the monoaminergic system. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 4, p. 642–650, June 2009.

MAHADEVAN, M. *et al.* *Mimosa pudica* exerts neuroprotection against mpp+induced neurotoxicity in SHSY5Y cell lines-an in vitro model of anti-parkinsonism. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 9, n. 1, p. 21, Dec. 2016.

MALHI, G. S.; MANN, J. J. Depression. **The Lancet**, v. 392, n. 10161, p. 2299–2312, Nov. 2018.

MANOSROI, J.; ZARUWA, M. Z.; MANOSROI, A. Potent hypoglycemic effect of nigerian anti-diabetic medicinal plants. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 8, n. 1, 2011.

MARMITT, D. J. *et al.* Plantas medicinais da RENISUS com potencial anti-inflamatório: revisão sistemática em três bases de dados científicas. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, 2015.

MAZUCO, T. R. R. *et al.* LPS-induced sickness behavior is not affected by selenium but is switched off by psychogenic stress in rats. **Veterinary Research Communications**, v. 43, n. 4, p. 239–247, Nov. 2019.

MENDEZ, A.S.L. *et al.* Caracterização de preparações extrativas obtidas de *Passiflora alata* Curtis. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 105-111, 2011.

MENG, Q. *et al.* Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana* used in traditional Chinese medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, n. 3, p. 350–368, July 2009.

MOEINI, R. *et al.* Nephrotonic and nephroprotective medicinal herbs in traditional persian medicine: review and assessment of scientific evidence. **Current Traditional Medicine**, v. 8, n. 3, June 2022.

NAGARAJAN, K.; SARAVANARAJA, M.; ARUNA DEVI, P. S. Antibacterial efficiency of fabaceae plants of a tropical freshwater lake. **SciXplore: International Journal of Research in Science**, v. 2, n. 2, p. 13, Dec. 2015.

NIGAM, M. Phytomedicine: scope and current highlights. *In*: EGBUNA, C.; MISHRA, A. P.; GOYAL, M. R. **Preparation of phytopharmaceuticals for the management of disorders**. [s.l.]: Elsevier, 2021. p. 39–54.

NOOREEN, R. *et al.* Polymer nanotherapeutics: a versatile platform for effective rheumatoid arthritis therapy. **Journal of Controlled Release**, v. 348, p. 397–419, Aug. 2022.

NOUREDDINE, B.; MOSTAFA, E.; MANDAL, S. C. Ethnobotanical, pharmacological, phytochemical, and clinical investigations on Moroccan medicinal plants traditionally used for the management of renal dysfunctions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 292, p. 115-178, June 2022.

NOVAIS, T. S. *et al.* Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 5–8, 2003.

OLIVEIRA, L. M. B. *et al.* Effects of *Mimosa tenuiflora* on larval establishment of *Haemonchus contortus* in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 3–4, p. 341–346, Sept. 2013.

OLIVEIRA, M. K. *et al.* Simvastatin attenuated sickness behavior and fever in a murine model of endotoxemia. **Life Sciences**, v. 254, p. 117-701, Aug. 2020.

OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R. Spray drying of plant extracts: basic remarks and application. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010.

OLIVIERI, R. *et al.* The additive effect of aging on sepsis-induced cognitive impairment and neuroinflammation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 314, p. 1–7, Jan. 2018.

PADOVAN, C. M.; GUIMARÃES, F. S. Antidepressant-like effects of NMDA-receptor antagonist injected into the dorsal hippocampus of rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 77, n. 1, p. 15–19, Jan. 2004.

PALE, S. *et al.* Anticonvulsant effects of *Cymbopogon giganteus* extracts with possible effects on fully kindled seizures and anxiety in experimental rodent model of mesio-temporal epilepsy induced by pilocarpine. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 286, p. 11463, Mar. 2022.

PAN, S.-Y. *et al.* Historical perspective of traditional indigenous medical practices: the current renaissance and conservation of herbal resources. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1–20, 2014.

PARMAR, F. *et al.* In vitro antioxidant and anticancer activity of *Mimosa pudica* linn extract and L-Mimosine on lymphoma daudi cells. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 12, p. 100–104, 2015.

PATEL, S. M. *et al.* Potential of neem (*Azadirachta indica* L.) for prevention and treatment of oncologic diseases. **Seminars in Cancer Biology**, v. 40–41, p. 100–115, Oct. 2016.

PEIXOTO, M. S. **Obtenção, caracterização e avaliação toxicológica de extrato seco padronizado à base de *Bauhinia fortificata* Link.** 2012. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

PINHEIRO FERREIRA, P. M. *et al.* Chemotherapeutic and safety profile of a fraction from *Mimosa caesalpiniiifolia* stem bark. **Journal of Oncology**, v. 2021, p. 1–12, Dec. 2021.

POOZESH, S.; BILGILI, E. Scale-up of pharmaceutical spray drying using scale-up rules: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 271–292, May 2019.

POTENZA, M. *et al.* Structure-based screening for the discovery of 1,2,4-oxadiazoles as promising hits for the development of new anti-inflammatory agents interfering with eicosanoid biosynthesis pathways. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 224, p. 113-693, Nov. 2021.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Tecnologia farmacêutica**. 6. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2008. v. 2.

QIAO, J. *et al.* Influence of different pretreatments and drying methods on the chemical compositions and bioactivities of *Smilax glabra* rhizoma. **Chinese Medicine**, v. 17, n. 1, p. 54, Dec. 2022.

RACADIO, S. P. The medicinal prospects of makahiya (*Mimosa Pudica* Linn) plant. **Advances in Life Sciences**, v. 2016, n. 1, p. 7–12, 2016.

RAMESH, S.; KARTHIKEYAN, K.; CHANDRAN, C. Photochemical screening and pharmacognostic studies on *Mimosa pudica* L (sensitive plant). **Int. J. Fauna Biol. Stud**, v. 4, n. 4, p. 170-175, 2017.

RAO, K. S.; HARAN, R. H.; RAJPOOT, V. S. Value addition: a novel strategy for quality enhancement of medicinal and aromatic plants. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 31, p. 100-415, Dec. 2022.

REIS, L. *et al.* *Curcumin attenuates* LPS-induced sickness behavior and fever in rats by modulating Nrf2 activity. **Neuroscience Letters**, v. 781, p. 136-680, June 2022.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253–268, Jan. 2018.

RITTIRSCH, D. *et al.* Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture. **Nature Protocols**, v. 4, n. 1, p. 31–36, Jan. 2009.

RIZWAN, K. *et al.* Phytochemistry and diverse pharmacology of genus *Mimosa*: a review. **Biomolecules**, v. 12, n. 1, p. 83, Jan. 2022.

RODRIGUES, E.; OLIVEIRA, D. R. DE. Ethnopharmacology: a laboratory science? **Rodriguésia**, v. 71, July 2020.

RODRIGUES, P. O.; GONÇALVES, T. C.; SILVA, W. B. Influência de diferentes sistemas de solventes no processo de extração de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 23, n. 1, p. 27-31, 2004.

ROSADO-VALLADO, M. *et al.* Antimicrobial activity of fabaceae species used in yucatan traditional medicine. **Fitoterapia**, v. 71, n. 5, p. 570–573, Sept. 2000.

ROZET, E. *et al.* New methodology for the development of chromatographic methods with bioanalytical application. **Bioanalysis**, v. 4, n. 7, p. 755–758, Apr. 2012.

ŠAMEC, D. *et al.* The role of polyphenols in abiotic stress response: the influence of molecular structure. **Plants**, v. 10, n. 1, p. 118, Jan. 2021.

SAXENA, R. *et al.* Qualitative and quantitative estimation of bioactive compounds in *Mimosa hamata*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 6, p. 72–75, 2014.

SERAGLIO, S. K. T. *et al.* Development and validation of a LC-ESI-MS/MS method for the determination of phenolic compounds in honeydew honeys with the diluted-and-shoot approach. **Food Research International**, v. 87, p. 60–67, 2016.

SHEEBA, G.; GOMATHI, K. S.; CITARASU, T. Anti-mycobacterial and phytochemical investigation of methanol extracts of few medicinal plants. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 3, p. 480–486, 2015.

SILVA, J. do N. *et al.* Toxicological, chemopreventive, and cytotoxic potentialities of rare vegetal species and supporting findings for the Brazilian Unified Health System (SUS). **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 83, n. 13–14, p. 525–545, July 2020.

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

SILVA, M. J. D. *et al.* The anti-inflammatory potential of *Mimosa caesalpiniiifolia* following experimental colitis: role of COX-2 and TNF-alpha expression. **Drug Research**, v. 68, n. 4, p. 196–204, Apr. 2018.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. **Pharmacological Reviews**, v. 56, n. 3, p. 387–437, Sept. 2004.

SOLEIMANI, M. *et al.* Phenolic compounds and antimicrobial properties of mint and thyme. **Journal of Herbal Medicine**, v. 36, p. 100-604, Dec. 2022.

- SOUZA, B. V. C. de *et al.* Nanoencapsulation and bioaccessibility of polyphenols of aqueous extracts from *Bauhinia forficata* link. **Food Chemistry: Molecular Sciences**, v. 5, p. 100-144, Dec. 2022.
- TAHSIN, MD. R. *et al.* An evaluation of pharmacological healing potentialities of *Terminalia arjuna* against several ailments on experimental rat models with an in-silico approach. **Heliyon**, v. 7, n. 11, p. e08225, Nov. 2021.
- TAN, T. *et al.* Influence and interaction of resting state functional magnetic resonance and tryptophan hydroxylase-2 methylation on short-term antidepressant drug response. **BMC Psychiatry**, v. 22, n. 1, p. 218, Dec. 2022.
- TUNNA, T. S. *et al.* Analyses and profiling of extract and fractions of neglected weed *Mimosa pudica* Linn. traditionally used in southeast Asia to treat diabetes. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 144–152, 2015.
- UTIGER, J. M. *et al.* Description of a rat model of polymicrobial abdominal sepsis mimicking human colon perforation. **BMC Research Notes**, v. 14, n. 1, p. 14, Dec. 2021.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519–528, jun. 2005.
- WHITEFORD, H.; FERRARI, A.; DEGENHARDT, L. Global burden of disease studies: implications for mental and substance use disorders. **Health Affairs**, v. 35, n. 6, p. 1114–1120, June 2016.
- WONGRAKPANICH, S. *et al.* A Comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. **Aging and disease**, v. 9, n. 1, p. 143, 2018.
- YANG, R. *et al.* The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used chinese herb. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, p. 5–18, Jan. 2017.
- YANKELEVITCH-YAHAV, R. *et al.* The forced swim test as a model of depressive-like behavior. **Journal of Visualized Experiments**, n. 97, Mar. 2015.
- YAZAR, J. G.; DEMIRAY, E. Degradation kinetics of bioactive compounds in dried mistletoe leaves during storage. **Food Bioscience**, v. 52, p. 102-477, Apr. 2023.
- ZHONG, J. *et al.* Targeted identification of glycosylated flavones and isomers in green tea through integrated ion-filtering strategy and mass-fragmentation characteristics based on the UPLC–Q–Orbitrap–MS/MS platform. **Food Chemistry**, v. 377, p. 131901, May 2022.

ANEXO



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Certidão
 Cadastro nº A8079A6

Declaramos, nos termos do art. 41 do Decreto nº 8.772/2016, que o cadastro de acesso ao patrimônio genético ou conhecimento tradicional associado, abaixo identificado e resumido, no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado foi submetido ao procedimento administrativo de verificação e não foi objeto de requerimentos admitidos de verificação de indícios de irregularidades ou, caso tenha sido, o requerimento de verificação não foi acatado pelo CGen.

Número do cadastro: **A8079A6**
 Usuário: **UNIFAL-MG**
 CPF/CNPJ: **17.879.859/0001-15**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético/CTA**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Mimosa caesalpinifolia

Fonte do CTA

CTA de origem não identificável

Título da Atividade: **Estudo químico e avaliação da atividade farmacológica do extrato seco obtido das folhas de Mimosa caesalpinifolia Benth.**

Equipe

Marcelo Aparecido da Silva	UNIFAL-MG
Vinicius de Carvalho Oliveira	Universidade Federal de Alfenas
Alexandre Giusti Paiva	Universidade Federal de Alfenas

Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

Identificação do meio onde foi divulgado: **Revistas Científicas**

Data do Cadastro: **10/12/2020 07:10:37**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **8:34 de 08/05/2023.**



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
 Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
 Lei nº 11.154, de 29 de julho de 2005

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UNIFAL-MG

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **Estudo químico e avaliação da atividade farmacológica do extrato seco obtido das folhas de Mimosa caesalpinifolia Benth.**, registrada com o nº **0033/2020**, sob a responsabilidade de **Marcelo Aparecido da Silva**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica**, com vigência de **01/02/2021 a 29/04/2022**, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-UNIFAL) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS.

Espécie/linhagem/raça	Total de animais	Total de machos	Total de fêmeas	Origem
Roedor / Wistar	90	90	0	Biotério da universidade federal de alfenas-mg

Alfenas, 17 de Junho de 2021

Prof(a). Dr(a). Pollyanna Francielli de Oliveira
 Coordenador(a) do CEUA/UNIFAL - MG