



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

THAÍS FEITOZA DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DO EXTRATO SECO
DE *Hyptis pectinata* (L.) Poit.**

SÃO CRISTÓVÃO/SE
2019

THAÍS FEITOZA DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DO EXTRATO SECO
DE *Hyptis pectinata* (L.) Poit.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal
de Sergipe como requisito obrigatório para
requerer o grau de Bacharela em Farmácia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Francilene Amaral da Silva
Coorientador: Prof. Me. Alex José Silveira Filho

SÃO CRISTÓVÃO/SE
2019

THAÍS FEITOZA DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE IN VITRO DO EXTRATO SECO
DE *Hyptis pectinata* (L.) Poit.**

Área de concentração: Ciências da Saúde/Farmácia

Data da Defesa: 12/08/2019

Resultado: _____

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Francilene Amaral da Silva

Coorientador: Prof. Me. Alex José Silveira Filho

Prof. Me. Bruno dos Santos Lima

Prof. Me. Fernando Henrique Oliveira de Almeida

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter sido minha luz para continuar nessa caminhada.

Ao meu avô Paulo (in memoriam) que desde criança segurou minha mão e até hoje caminha lado a lado comigo, não me deixando sozinha nesse mundo. Te amo ao infinito, indo e vindo.

Aos meus pais, pela criação, pelo investimento em minha educação, por tanta preocupação e zelo ao máximo para me fortalecer e me criar para esse mundo.

A vovó Lourdes por ser minha companheira, por me fazer rir, suavizar o meu final do dia com conversas e conselhos aleatórios e divertidos.

As minhas irmãs, Yanne e Cecília, por partilharem comigo momentos de irritação, carinho, lazer e serem uma parte de mim. Cecília por cada dia que eu chego, sorrir para mim e me fazer acreditar que amanhã será um dia melhor.

Aos meus tios e tias, especialmente minhas tias avós Beta e Cristina, que quando eu mais precisei me acolheram com muito carinho. Tia Cristiane por ser tão presente, sempre vibrando e torcendo por mim. Assim como minhas tias do coração, Célia e Suzi. Aos meus primos, Ana Leticia, Pietro e Guilherme, obrigada por me fazerem rir.

As minhas amigas de sempre para sempre, Alice, Bruna e Ray-Anne, pela torcida, por entender que mesmo que a gente não se visse uma estaria lá pela outra.

A minha segunda família na faculdade, o Núcleo de Pesquisa em Produtos Naturais e Assistência Farmacêutica – NUPPNAF – sob a coordenação de Francilene que me acolheu em seu laboratório, obrigada pela confiança depositada em mim durante todos esses anos. Ao professor Wellington por tantos ensinamentos em apenas poucos minutos de conversa. Agradeço a Alê por ter sido a primeira pessoa que me acolheu, me adotou e me ensinou. A Bizarro que além de me ensinar, me fazia rir. A Fernando Henrique que me ensinou que além de ser da bancada, o mundo é nosso. Tamires, por ser essa cientista que eu quero ser pelo menos metade quando eu crescer. Clara Raíssa, por ser a mãezona de todos nós. Aline, Dani, Andrea pela companhia diária. A todos e todas que fazem parte desse lugar.

A Saulo, agradeço pelo companheirismo durante 4 anos de graduação. Minha dupla de estudos, tarefas e laboratório. Obrigada por ter me aturado durante esses anos, me escutado, me socorrido, sido uma parte de mim.

Agradeço a Antônio por ter sido minha primeira dupla, meu par, meu tudo, meu amorzão. Por ter sido nós dois em nosso mundo gótico por um espaço curto de tempo, sendo o melhor.

As meninas que percorreram esses anos juntamente comigo, Aninha, Lici, Karol e Camila, por serem cada uma com jeito especial, companheiras, amigas.

As amigades que fui fazendo durante esses anos Luzi, Davi, Ana Maria, Cláudio Júnior, Fernando Castro, Diego, Mônica, Izabella, Amanda por irem suavizando e tornando mais divertido.

Izabelly, mais que amigas: irmãs. Obrigada por estar comigo em todos os momentos, por não te me abandonado e segurado a barra comigo sempre que preciso, “corre aqui”.

Ao Centro Acadêmico de Farmácia Cezartina Régis e a Atlético Narcóticos, obrigada por terem confiado em mim e pelos ótimos momentos.

Agradeço a UFS por todo suporte e estrutura.

A todos e todas que de alguma maneira contribuíram nessa caminhada e a tornaram possível.

RESUMO

Hyptis pectinata (L.) Poit. conhecida popularmente por “sambacaitá” ou “canudinho”, é utilizada na medicina tradicional para o tratamento de distúrbios gástricos, febre, infecções de pele, rinofaringite, doenças de pele e congestão pulmonar. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi obter o extrato seco da *H. pectinata* (ESHP) pelo método de spray-dryer e caracterizá-lo, além de avaliar *in vitro* a atividade antioxidante do mesmo. A *H. pectinata* foi coletada no campus rural da Universidade Federal de Sergipe (UFS), onde foi realizada a produção da solução extrativa de *H. pectinata* (SEHP) e posteriormente obtido o extrato seco que foi caracterizado físico-quimicamente. Ao obter o pó foram feitos testes para determinação se o fluxo e a compactação dele a partir de métodos como o teor de umidade em balança com infravermelho, densidade bruta e de compactação, fator de *Hausner* e índice de compressibilidade, além da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para caracterizar quimicamente foi realizada análises por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), além de testes de compostos fenólicos e teor de flavonoides totais. Também foram feitos testes de avaliação antioxidante frente ao radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) e investigação do potencial reducional do ferro (FRAP). Na caracterização química do ESHP por CLAE foram identificados ácido cafeico, isoquercitrina e rutina. O teor de fenólicos totais presentes no ESHP foi de $111,60 \pm 1,10$, enquanto que o teor de flavonoides totais foi de $187,95 \pm 3,31$. Na atividade antioxidante o ESHP apresentou atividade perante os métodos utilizados. No teste do DPPH•, o ESHP apresentou IC₅₀ para o ESHP foi de 25,22 µg/mL, sendo superior ao controle Trolox. Ao analisar o FRAP, é possível observar que quanto maior a concentração do extrato, maior o potencial, sendo mais notório a atividade partir da concentração de 30 µg/mL, superando o controle. Com esses resultados, pode ser observado que a espécie possui atividade devido a presença de flavonoides.

PALAVRAS CHAVE: *Hyptis pectinata*, extrato seco, spray-dryer, caracterização, flavonoides, antioxidante.

ABSTRACT

Hyptis pectinata (L.) Poit. Popularly known as “sambacaitá” or “canudinho”, it is used in traditional medicine to treat gastric disorders, fever, skin infections, rhinopharyngitis, skin diseases and pulmonary congestion. Thus, the objective of this work was to obtain the *H. pectinata* dry extract (ESHP) by the spray-dryer method and to characterize it, besides evaluating its antioxidant activity in vitro. *H. pectinata* was collected at the rural campus of the Federal University of Sergipe (UFS), where the production of *H. pectinata* extractive solution (SEHP) was produced and subsequently obtained the dry extract that was physically and chemically characterized. To obtain the powder, tests were performed to determine its flow and compaction from methods such as infrared scale moisture content, gross and compaction density, Hausner factor and compressibility index, in addition to scanning electron microscopy. (SEM). To characterize chemically, analyzes were performed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), as well as testing of phenolic compounds and total flavonoid content. Antioxidant evaluation tests were also carried out against the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH •) and investigation of the iron reduction potential (FRAP). In the chemical characterization of ESHP by HPLC, caffeic acid, isoquercitrin and rutin were identified. The total phenolic content present in the ESHP was 111.60 ± 1.10 , while the total flavonoid content was 187.95 ± 3.31 . In antioxidant activity the ESHP presented activity before the methods used. In the DPPH • test, the ESHP presented an IC₅₀ for the ESHP was $25.22 \mu\text{g} / \text{mL}$, being superior to the Trolox control. When analyzing the FRAP, it is possible to observe that the higher the concentration of the extract, the greater the potential, the more noticeable the activity from the concentration of $30 \mu\text{g} / \text{mL}$, surpassing the control. With these results, it can be observed that the species has activity due to the presence of flavonoids.

Keywords: *Hyptis pectinata*, dry extract, spray dryer, characterization, flavonoids, antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espécie de <i>H. pectinata</i>	16
Figura 2: Fotomicrografias do ESHP obtidas por MEV observadas em diferentes aumentos 200x (A), 500x (B) e 100x (C)	30
Figura 3: Perfil cromatográfico do ESHP a 340 nm. P1: ácido cafeico (C ₉ H ₈ O ₄), P2: isoquercitrina (quercetina 3-β-O-glicosídeo) (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂), P3: rutina (C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆)	31
Figura 4: Percentual de varredura do radical DPPH•, em função das concentrações de ESHP	34
Figura 5: Capacidade redutora do ferro, em função das concentrações de ESHP	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação dos nomes populares de <i>H. pectinata</i>	16
Tabela 2. Relação de algumas atividades biológicas descritas para a espécie <i>H. pectinata</i>	18
Tabela 3: Gradiente de eluição após a otimização do método	26
Tabela 4: Resultados do teor de umidade do ESHP e dos índices de fluidez e compressibilidade	29
Tabela 5: Resultado da determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais do ESHP	32

LISTA DE ABREVIATURAS

AG – Ácido gálico

Ag - Prata

CLAE-DAD- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos

DPPH – *2,2-difenil-1-picrilhidrazil*

EAG – Equivalente Ácido Gálico

ECAT – Equivalente de catequina

ESHP- Extrato seco de *H. pectinata*

FH- Fator de *Hausner*

FRAP - Investigação do potencial reducional do ferro

IC- Índice de compressibilidade

LeFT- Laboratório de Ensaio Farmacêuticos e Toxicidade

MeOH - Metanol

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MS- Ministério da Saúde

NUDATEF- Núcleo de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos

OMS- Organização Mundial de Saúde

PNPIC- Política Nacional de Práticas Integrativas

PNPMF- Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

RENAME- Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

RENISUS- Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS

SEHP- Solução extrativa de *H. pectinata*

SUS- Sistema Único de Saúde

UFS- Universidade Federal de Sergipe

UFPE- Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1-	Plantas Medicinais	14
2.2	Família Lamiaceae	14
2.3	Gênero <i>Hyptis</i>	15
2.4	<i>Hyptis pectinata</i>	15
2.5	Métodos de extração	18
2.6	Métodos de secagem empregados na obtenção de extrato seco	19
2.7	Atividade antioxidante	20
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	Objetivo Geral.....	22
3.2	Objetivos Específicos	22
4	MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Obtenção da matéria-prima vegetal	23
4.2	Obtenção da Solução Extrativa de <i>H. pectinata</i> (SEHP).....	23
4.3	Obtenção e caracterização do extrato seco nebulizado de <i>H. pectinata</i> (ESHP).....	23
4.4	Caracterização do ESHP	24
4.4.1	Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho do ESHP.....	24
4.4.2	Determinação da densidade bruta (ρ_b) e de compactação (ρ_c).....	24
4.4.3	Determinação do fator de Hausner (FH) e índice de compressibilidade (IC).24	
4.4.4	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	25
4.5	Caracterização química do ESHP por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a detector de arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD)	25
4.5.1	Preparo das amostras para análises em CLAE-DAD	25
4.5.2	Metodologia analítica	25
4.6	Determinação do teor de fenólicos totais do ESHP	26
4.7	Determinação de flavonoides totais do ESHP	27
4.8	Avaliação da atividade antioxidante do ESHP	28
4.8.1	Capacidade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH•)	28
4.8.2	Capacidade antioxidante pelo ensaio de potencial reducional de ferro (FRAP) 28	
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1	Caracterização do ESHP	29
5.1.1	Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho, determinação da densidade bruta (ρ_b) e de compactação (ρ_c), fator de Hausner (FH) e índice de compressibilidade (IC)	29
5.1.2	Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)	30

5.2	Caracterização química do ESHP	31
5.3	Determinação do teor fenólicos e flavonoides totais	32
5.4	Atividade Antioxidante.....	33
5.4.1	Capacidade antioxidante pelo método DPPH•	33
5.4.2	Capacidade redutora do ferro (método FRAP).....	34
6	CONCLUSÃO	36
7	REFERÊNCIAS	37

1. INTRODUÇÃO

As plantas foram por muito tempo utilizadas pelo homem como único recurso terapêutico, para a cura, prevenção e tratamento de doenças. O homem buscou na natureza soluções para os males que o assolava, fossem estes de ordem física ou espiritual. O relato mais antigo sobre a utilização de plantas para finalidades terapêuticas data de aproximadamente 2800 a. C., quando o imperador chinês *Shen Nung* classificou 365 plantas com propriedades medicinais. Outros indícios do uso de plantas medicinais, na antiguidade, podem ser encontrados no Papiro de *Ebers* (1500 a. C.), um dos tratados médicos mais antigos e importantes que se conhece. (AHMED et al., 2018; BADKE, 2011; BAPTISTA et al., 2018; FIRMO et al., 2011).

O conhecimento sobre plantas medicinais evoluiu ao longo dos anos, o que possibilitou o desenvolvimento de remédios e medicamentos mais eficazes. Além da desenvoltura de medicamentos, a prática do uso popular dessas plantas ainda perpetua e com isso a Organização Mundial da Saúde (OMS) vem, há alguns anos, incentivando como estratégia global para o tratamento das condições de saúde, a medicina popular, com o objetivo de reforçar o compromisso de estimular o desenvolvimento de políticas públicas que priorizem o emprego de plantas medicinais ou outras práticas tradicionais, a fim de inseri-las nos sistemas oficiais de saúde dos Estados-Membros. Seguindo o que preconiza a OMS, foi aprovada no Brasil, em 2006, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) para o Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, também foram aprovados a Política e o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (RICARDO et al., 2015; MARMITT et al., 2015; MARMITT et al., 2015).

No ano de 2009, foi lançada pelo Ministério da Saúde (MS) a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), uma lista de plantas que apresenta potencial para gerar produtos de interesse ao SUS, sendo que algumas dessas plantas são usadas pela sabedoria popular e possuem efeitos farmacológicos cientificamente comprovados (BRASIL, 2009; MARMITT et al., 2015).

A RENISUS tem como objetivo orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso da população, com segurança e eficácia para o tratamento de determinada condição clínica. Dentre algumas plantas encontradas na RENISUS podem ser citadas a *Cynara scolymus* (L.) Fiori (“alcachofra”), *Lippia sidoides* (L.) Cham. (“alecrim pimenta”) e a *Uncaria tomentosa* (Willd.) K.Schum (“unha-de-gato”), que são utilizadas popularmente, para distúrbios de digestão, inflamação

vaginal e dores articulares, respectivamente, e possuem suas atividades terapêuticas comprovadas a partir do uso popular. Outras plantas como *Hyptis pectinata* (L.) Poit. (“sambacaitá”), *Pimpinella anisum* (L.) Crantz, (“anis”), *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (“citronela”) não fazem parte da RENISUS, porém apresentam diversos relatos de utilização na medicina tradicional (CARVALHO et al., 2012).

A espécie *H. pectinata* é uma planta perene de importante valor medicinal no Nordeste do Brasil, sendo conhecida popularmente como “sambacaitá”. A *H. pectinata* é usada tradicionalmente como: analgésica, e tratamento de doenças de pele, febre e infecções fúngicas ou bacterianas, além de ser usada também no tratamento de ferimentos e cicatrização (CARVALHO et al., 2012; FALCÃO et al., 2013 & PAIXÃO et al., 2013).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo apresentar um método de secagem por nebulização para o extrato da *H. pectinata* para desenvolver futuramente possíveis formulações farmacêuticas que possam ser utilizadas pela população de acordo com as indicações terapêuticas dessa planta.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1- PLANTAS MEDICINAIS

A importância da utilização das plantas medicinais foi reconhecida pela OMS, que recomenda o seu uso como forma de reduzir os custos dos programas de saúde pública, além de prover acesso à saúde, para a população mais pobre, especialmente em países em desenvolvimento e emergentes. De acordo com a OMS, as plantas medicinais são aquelas que possuem em seus órgãos, substâncias com propriedades profiláticas e/ou terapêuticas e seu uso, no Brasil, é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2006; BUENO, 2005).

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) e a PNPIC, deliberam diretrizes e responsabilidades para inclusão das plantas medicinais e fitoterápicos, além de outras opções terapêuticas no sistema público de saúde como sendo estratégias importantíssimas para o SUS (BRASIL, 2006).

As plantas são matérias-primas para o desenvolvimento e produção de fitoterápicos e de outros medicamentos, em que consiste o foco de pesquisas farmacológicas e de desenvolvimentos farmacêuticos. Segundo o MS, o estímulo à pesquisa, ao desenvolvimento tecnológico e inovador ocorre de acordo com as necessidades epidemiológicas da sociedade, isso constitui uma estratégia importante para a PNPMF (BRASIL, 2018; RODRIGUES, 2002).

Além de o Brasil ser o maior detentor da flora mundial, a crescente busca da matéria prima para produção desses medicamentos está aqui. Como exemplo do Acheflam que vem da *Cordia verbenacea* e serve para tratamento de artrites e dores musculares, sendo um dos primeiros fitoterápicos utilizados produzidos daqui do Brasil (PIRES, et al., 2015).

O incentivo da fitoterapia no SUS vem crescendo a cada dia, com a implantação de hortos medicinais nas Unidades de Saúde ou até mesmo com prescrições feitas para o uso de plantas medicinais. Devido a isso, o Brasil é um campo extenso para essa prática, o que iria melhorar os atendimentos na rede do SUS (ALMEIDA, 2018).

2.2 FAMÍLIA LAMIACEAE

Lamiaceae é uma família na maioria das vezes de plantas aromáticas, que abrange aproximadamente 252 gêneros e mais de 7.000 espécies vegetais. São plantas com distribuição cosmopolita e apresentam-se como ervas, arbustos ou árvores pequenas. Muitas espécies dessa família são conhecidas devido às suas ações terapêuticas e condimentares (DE ANDRADE PORTO et al., 2017; LIMA et al., 2007; MAMADALIEVA et al., 2017; MIRZAEI et al., 2015; RAJA, 2012).

As plantas da família Lamiaceae possuem um grande potencial para a obtenção de óleos essenciais, sendo comumente empregadas nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Os óleos essenciais possuem uma gama de atividades biológicas e, por esta razão, muitas espécies desta família são utilizadas na medicina popular para o tratamento de queimaduras, cólica, febre, dores de cabeça e combate de parasitas intestinais (DA SILVA RAMOS et al., 2017; DE ANDRADE PORTO et al., 2017).

Estudos fitoquímicos realizados com espécies da família Lamiaceae levaram ao isolamento de diferentes metabólitos secundários com potencial biológico, incluindo flavonoides, iridoides e terpenoides (MAMADALIEVA et al., 2017).

2.3 GÊNERO *HYPTIS*

O gênero *Hyptis* possui aproximadamente 280 espécies de espécies aromáticas, com grande importância econômica e etnofarmacológica, as quais estão distribuídas em regiões tropicais da África, América e Ásia (BASÍLIO et al., 2006; FALCÃO; MENEZES, 2003; PEDROSO et al., 2017).

As plantas que compõem este gênero são arbustos ou árvores pequenas, geralmente possuem caules quadrangulares, folhas opostas, simples e raramente partidas, pecioladas ou sésseis e são amplamente empregadas na medicina tradicional para o tratamento de diversas condições de saúde (BASÍLIO et al., 2006; FALCÃO; MENEZES, 2003).

Na literatura, são atribuídas a este gênero diferentes atividades farmacológicas, incluindo antimicrobiana, citotóxica, antifúngica, inseticida, anti-ulcerogênica, anti-inflamatória, antiedematogênica e antinociceptiva. Espécies do gênero *Hyptis*, como *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. e *H. pectinata* são utilizadas na medicina popular, na forma de decocto ou infusão para o tratamento de febre, cólicas menstruais, cefaleia, cicatrização de feridas, como anti-inflamatória e distúrbios estomacais (BASÍLIO et al., 2006; DE SÁ et al., 2016; FALCÃO; MENEZES, 2003; QUINTANS-JÚNIOR et al., 2018; ROJAS et al., 1992; SERAFINI et al., 2017; SILVA et al., 2002).

2.4 *HYPTIS PECTINATA*

A espécie *H. pectinata* é uma erva ou subarbusto perene, aromático que mede cerca de 1-2 metros de altura. Seu caule e ramos são quadrangulares, de coloração cinza-esverdeados, as folhas são ovaladas ou oval-elípticas, ápice agudo e margem serrada. As inflorescências terminais são em panículas espiciformes densas e ráquis longa. Flores curto-pediceladas,

hermafroditas, protegidas por brácteas; cálice tubuloso, inflado e glabrescente; corola alva a rósea, bilabiada; anteras bitecas; Fruto esquizocárpico, separado em quatro núculas estreitas, oblongo-ovoides (BASÍLIO et al., 2006; BISPO et al., 2001; PAIXÃO et al., 2013).

No Nordeste brasileiro, a espécie *H. pectinata*, possui ampla distribuição e, é conhecida popularmente por “sambacaitá” ou “canudinho”. Na medicina popular, é utilizada para o tratamento de distúrbios gástricos, febre, infecções de pele, rinofaringite, doenças de pele e congestão pulmonar (NASCIMENTO et al., 2008; ROJAS et al., 1992; SERAFINI et al., 2012, 2017; TCHOUMBOUGNANG et al., 2005).

No estado de Sergipe, *H. pectinata* é extensivamente usada pela população para o tratamento de dores, infecções bacterianas, congestão nasal, analgésica, como anti-inflamatória, cicatrizante e tratamento de câncer. Ela é bastante utilizada em forma de decocção de suas folhas. A *H. pectinata* possui várias denominações de acordo com a região ou país em que se encontra, como pode ser visto na **tabela 1**.

(BISPO et al., 2001; LISBOA et al., 2006; MELO et al., 2005).

Figura 1- *Hyptis pectinata*



Tabela 1: Relação dos nomes populares de *H. pectinata*.

Nome (s) popular (es)	Local	Referência (s)
Alfazema, Alfazema-brava,	Brasil	AGRA et al., 2007; ALBUQUERQUE;
Alfazema-de-caboclo, Alfazema-do-		AQUINO et al., 2010; ARRIGONI-
mato, canudinho, sambacaitá		BLANK et al., 2008; BASÍLIO et al.,
		2006; BISPO et al., 2001; FALCAO et
		al., 2013; MENEZES et al., 2015;
		MONTEIRO et al., 2006; A;
		NASCIMENTO et al., 2008; OLIVEIRA,

Cont. tabela 1

		2007; PAIXÃO et al., 2013; RAYMUNDO et al., 2011; SERAFINI et al., 2012, 2017.
Bongoloza	Uganda	SSEGAWA; KASENENE, 2007.
Hierba del burro, xoltexnuk	México	FRAGOSO-SERRANO; GIBBONS; PEREDA-MIRANDA, 2005; PEREDA-MIRANDA et al., 1993; ROJAS et al., 1992; SHARMA et al., 2017.
Hozandongole	Tanzânia	CHHABRA; MAHUNNAH; MSHIU, 1990.
Makuri, mungaimu	Quênia	GITHINJI; KOKWARO, 1993.
Pambapoleo	Equador	TENE et al., 2007.
Peaba	Gana	BOALINO et al., 2003.

A *H. pectinata* tem sua composição fitoquímica variada. Em seu óleo essencial podem ser encontrados diferentes sesquiterpenos como β -cariofileno, óxido de cariofileno, germacreno D, biciclogermacreno, β -elemeno (JESUS et al., 2016; KOBAYASHI et al., 2007; MENEZES et al., 2016; PIETSCHMANN et al., 1998; SANTOS et al., 2008; SERAFINI et al., 2012; TCHOUMBOUGNANG et al., 2005).

Estudos realizados com extratos das partes aéreas de *H. pectinata* culminaram no isolamento de outros metabólitos secundários. Pereda-Miranda e colaboradores (1993) investigaram o extrato clorofórmico de *H. pectinata* e isolaram lactonas de importante valor medicinal, a saber hyptinolídeo e os pectinolídeos A-C.

Na literatura são descritas várias atividades farmacológicas para a espécie *H. pectinata*, entre elas: antinociceptiva, antiedematogênica, anti-inflamatória, antisséptica, antimicrobiana, antiplasmodial, anti-*Leishmania*, formicida, cicatrizante, hepatoprotetora e larvicida, como podem ser observadas na **tabela 2** (ARRIGONI-BLANK et al., 2008; BISPO et al., 2001; CLARKSON et al., 2004; FALCAO et al., 2013; FALCÃO et al., 2016; FEITOSA-ALCANTARA et al., 2017; MALAN et al., 1988; NASCIMENTO et al., 2008; RAYMUNDO et al., 2011; SILVA et al., 2002; SILVA et al., 2008, VASCONCELOS et al., 2005).

Tabela 2. Relação de algumas atividades biológicas descritas para a espécie *H. pectinata*.

Atividade farmacológica	Órgão vegetal	Extrato/ óleo essencial	Referência (s)
Antinociceptiva	Folhas	Extrato aquoso OE	BISPO et al., 2001; ARRIGONI-BLANK et al., 2008; LISBOA et al., 2006; RAYMUNDO et al., 2011.
Antinociceptiva orofacial	Folhas	Extrato etanólico	FALCÃO et al., 2016
Antiedematogênica	Folhas	Extrato aquoso	BISPO et al., 2001; ARRIGONI-BLANK et al., 2005.
Anti-inflamatória	Folhas	OE	RAYMUNDO, et al., 2011.
Cicatrizante	Folhas	Extrato etanólico	VASCONCELOS et al., 2016.
Formicida	Partes aéreas	OE	FEITOSA-ALCANTARA et al., 2017
Leishmanicida	Folhas	Extrato etanólico Fração hexano Fração acetato de etila Fração metanol/água	FALCAO et al., 2013

Ao saber as atividades farmacológicas da *H. pectinata*, é importante saber qual o método extrativo ideal para obter os princípios ativos responsáveis por tais propriedades. Os métodos empregados pode se assemelhar às técnicas de uso popular, como decocção ou a infusão, ou empregando tecnologias mais sofisticadas, com utilização de aparelhos ou solventes, que possam facilmente ser transpostas para escalas industriais para produção de fitoterápicos (BRANDÃO, 2016).

2.5 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Sabendo das diversas características que as plantas vêm a oferecer, como as propriedades medicinais, os métodos extrativos são responsáveis por obter os metabólitos ativos para as determinadas formas terapêuticas. Dentre esses métodos podem ser citados: decocção, infusão, maceração, percolação e turbo-extração. Durante a escolha do método algumas condições devem ser consideradas, como fatores que influenciam direta ou indiretamente durante esse processo de extração, tais como parte do material vegetal utilizado, origem dessa matéria-prima, solvente, tamanho da partícula e a temperatura em que será feito o processo (OLIVEIRA et al., 2016).

A maneira como ocorre essa extração dos metabólitos secundários da planta influencia o potencial farmacológico e a composição química. A maceração é um processo de extração no qual a planta fica em contato com o solvente, por horas ou dias e não leva esgotamento total

dos princípios ativos devido a saturação do líquido extrator. A percolação é um método de extração dinâmico, no qual o solvente permeia lentamente o vegetal através força da gravidade. (MIGLIATO; CORRÊA; SALGADO, 2011; TORRES et al., 2018).

A decocção é um método extrativo em que o princípio ativo encontra-se em partes mais duras como raízes, caules ou cascas. Sendo assim, o método consta na fervura da água juntamente com a parte da planta. A infusão já é um método para partes mais moles, como as folhas. Em que a água é colocada sobre as folhas e deixa-se em repouso (TEIXEIRA et al., 2011).

A turbólise ou turbo-extração apresenta-se como um modelo dinâmico e rápido para a extração de metabólitos secundários. A técnica é baseada na extração com agitação e redução simultânea do tamanho de partícula por meio da aplicação de uma força de cisalhamento que promove a ruptura das células vegetais. A ruptura das células vegetais leva a dissolução das substâncias ativas no meio extrator, esgotando, assim, em questão de segundos, quase que completamente a droga vegetal (MARTINS et al., 2017).

A partir da obtenção do extrato vegetal, a importância da secagem do mesmo é essencial para utilização em produtos sejam esses intermediários ou finais para a produção de formulações farmacêuticas (VASCONCELOS, et al., 2005).

2.6 MÉTODOS DE SECAGEM EMPREGADOS NA OBTENÇÃO DE EXTRATO SECO

Os métodos de secagem empregados na indústria farmacêutica têm o objetivo de evaporar a solvente e separá-lo das substâncias de interesse, a fim de evitar a proliferação bacteriana, reações químicas e/ou fenômenos físicos e facilitar o manuseio e transporte. Entre as técnicas de secagem empregadas na obtenção de extratos secos, podemos destacar a liofilização e *spray-dryer*. A liofilização é um método de secagem por sublimação, empregado, principalmente, para produtos lábeis. Nessa técnica, a água congelada, presente na solução extrativa é eliminada por sublimação a alto vácuo. O processo acontece em condições de temperatura e pressão abaixo do ponto triplo da água (0,0060 atm e 0,01 °C) para permitir a sublimação da água congelada (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; JADHAV; MOON, 2015).

O processo de secagem por aspersão ou *spray-drying* consiste em três etapas fundamentais: a primeira envolve o aumento da área superficial, através da dispersão do fluido em gotículas; a segunda envolve a transferência de calor, através com contato das gotículas com o ar aquecido; e a terceira envolve a evaporação do solvente e formação da

partícula sólida. No processo de transferência de calor do ar aquecido às gotículas, o líquido da superfície evapora rapidamente, conduzindo a formação de uma camada de material seco. As partículas solidificadas, geralmente, apresentam o mesmo tamanho e forma da gotícula que as originou. Para a secagem de extratos vegetais, alguns adjuvantes tecnológicos também podem ser empregados, a fim de garantir a estabilidade e qualidade dos extratos (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010).

A secagem por aspersão ou *spray-drying* não apenas influencia as características físico-químicas e tecnológicas dos produtos obtidos como também os aspectos microbiológicos. Sendo assim, os extratos secos por aspersão são comumente empregados como produtos intermediários ou finais, principalmente nas formas farmacêuticas sólidas, devido à sua alta estabilidade química e microbiológica, facilidade de armazenamento e transporte além de se ter uma maior concentração de constituintes químicos (SOARES et al., 2005; OLIVEIRA & PETROVICK, 2010)

A fim de garantir estabilidade e qualidade dos extratos durante sua secagem, alguns adjuvantes tecnológicos também podem ser empregados. A utilização de adjuvantes no processo de secagem, tais como maltodextrina, dióxido de silício coloidal, celulose e amido, pode promover um melhor manuseio, conferindo maior proteção contra a adsorção de umidade no produto final e maior estabilidade física (CAVALCANTE et al., 2018; OLIVEIRA, COSTA; AFONSO, 2014; VASCONCELOS et al., 2005).

2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbia e de todos os organismos vivos, já que é a partir dessa que existe a conversão das ligações químicas de moléculas ricas em energia que poderão ser usadas nos processos vitais. Os radicais livres são espécies quimicamente instáveis, com elétrons desemparelhados, produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Os radicais livres cujo elétron desemparelhado encontram-se centrados nos átomos de oxigênio denominados espécies reativas de oxigênio (ERO) e nos átomos de nitrogênio são conhecidos por espécies reativas de nitrogênio (ERN) (BARREIROS et al., 2006; VASCONCELOS et al., 2014).

Os radicais livres participam da produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Porém, quando há excesso dessas espécies reativas no organismo, ocorre o estresse oxidativo, que transcorre em efeitos prejudiciais tais como: peroxidação de lipídios de membrana,

agressão as proteínas, enzimas, carboidratos e DNA. O estresse oxidativo está relacionado a diversas patologias, tais como: artrite, disfunções cognitivas e câncer, além de causar envelhecimento e provocar a morte celular (BARREIROS et al., 2006; ALVES et al., 2010).

Nas últimas décadas houve um grande interesse no estudo de substâncias com potencial antioxidante, devido, às descobertas do efeito dos radicais livres no organismo. Essas substâncias podem retardar ou inibir a velocidade de oxidação de maneira eficaz e, conseqüentemente, reduzir os danos celulares causados pelas ERO e ERN, combatendo as doenças causadas por esses danos. Assim, o sucesso das investigações com substâncias antioxidante está diretamente relacionado com a melhoria da qualidade de vida do ser humano (PIETTA, 2000; VASCONCELOS et al., 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Obter o extrato seco por spray-dryer de *Hyptis pectinata*

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Caracterizar o extrato seco de *H. pectinata*;
- ✓ Determinar o teor de compostos fenólicos e flavonoides totais;
- ✓ Avaliar o potencial antioxidante in vitro do extrato seco de *H. pectinata*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA VEGETAL

As partes aéreas de *H. pectinata* foram coletadas no Campus Rural da UFS, São Cristóvão, Sergipe, Brasil [10° 18' 20.7" (S); 36° 39' 7.2" (W) e 120 m acima do nível do mar]. A identificação botânica do material vegetal foi realizada pela professora Ana Paula do Nascimento Prata, do Departamento de Biologia da UFS. e uma exsicata foi depositada no Herbário da UFS (ASE0037255).

Após a coleta, as partes aéreas da planta foram analisadas macroscopicamente a fim de retirar impurezas e levadas para estabilização em estufa de ar circulante (Modelo PE 14 Júnior Pardal) a temperatura 40 ± 2 °C, por 72 horas. Depois estabilizadas, as partes aéreas foram trituradas em moinho de facas (Modelo WILLYE-TE-680 Tecnal), para a obtenção da droga vegetal triturada.

4.2 OBTENÇÃO DA SOLUÇÃO EXTRATIVA DE *H. PECTINATA* (SEHP)

Esta etapa foi realizada no Laboratório de Farmacognosia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no Núcleo de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos (NUDATEF), sob supervisão do professor Luiz Alberto Lira Soares.

A solução extrativa foi obtida por meio do processo de turbo-extração da matéria-prima vegetal. Para isso, foram pesadas 50 g do material triturado e colocado em contato com o solvente etanol (EtOH) 50%/água destilada (v/v), na proporção 1:10 (p/v) dentro do Liquidificador Industrial de Alta Rotação (Modelo METVISA LAR-2). O processo foi realizado em quatro ciclos de 30 segundos, com intervalos de quatro minutos para a obtenção do turbo-extrato e repetido sete vezes.

4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO NEBULIZADO DE *H. PECTINATA* (ESHP)

Esta etapa foi previamente realizada no Laboratório de Farmacognosia da UFPE, no NUDATEF, sob supervisão do Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares.

O extrato seco de *H. pectinata* foi obtido a partir da SEHP, utilizando como adjuvante de secagem, o Aerosil[®] (dióxido de silício coloidal). A SEHP foi seca por atomização utilizando um aparelho *spray-dryer* (Modelo LM MSDi 10) por pulverização, com bocal de dois componentes e fluxo de corrente, sob as seguintes condições de operação: temperatura de entrada 140 °C taxa de alimentação 0,6 L/h e pressão de pulverização de 2 bar. Todo ESHP contém 90% de extrato bruto e 10% do adjuvante tecnológico de secagem.

4.4 Caracterização do ESHP

4.4.1 Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho do ESHP

A determinação da umidade residual foi realizada através do método gravimétrico, descrito na Farmacopeia Brasileira, utilizando um analisador de umidade (Modelo And MX-50). Os resultados são expressos em percentual ponderal e representam a média aritmética de três análises (ANVISA, 2010).

Alíquotas de 100 mg do ESHP foram retiradas e colocadas na balança de infravermelho, em triplicata, cada análise durou 5 minutos.

4.4.2 Determinação da densidade bruta (ρ_b) e de compactação (ρ_c)

Para a determinação da densidade bruta do ESHP, foram pesadas cinco gramas do extrato, separadamente, e transferidos para provetas de 100 mL para a medida do volume ocupado pelo pó e determinação da densidade bruta. Depois o pó contido na proveta foi submetido a 1250 quedas, o ensaio foi realizado até que a diferença entre duas leituras subseqüentes fosse de aproximadamente 2,0 mL. A análise foi realizada em triplicata (SANTANA et al., 2014).

4.4.3 Determinação do fator de Hausner (FH) e índice de compressibilidade (IC)

O fator de Hausner (FH) e o índice de compressibilidade (IC) são métodos indiretos para avaliar a estabilidade da coluna de pó e estimar as suas propriedades de fluxo. O FH foi determinado através do quociente entre as densidades de compactação e bruta do ESHP, conforme a **equação 1** (SANTANA et al., 2014; WANCZINSKI et al., 2002).

$$FH = \rho_c / \rho_b \quad \text{Equação (1)}$$

Onde: ρ_b é a densidade bruta

ρ_c é a densidade de compactação

O IC foi determinado conforme a **equação 2** (WANCZINSKI et al., 2002)

$$IC = \rho_c - \rho_b / \rho_c \quad \text{Equação (2)}$$

Onde: ρ_b é a densidade bruta

ρ_c é a densidade de compactação.

4.4.4 *Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

A forma de características superficiais da amostra foi analisada através da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), empregando-se o microscópio eletrônico de varredura (JSM-5700 JOEL). A amostra foi colocada sobre um porta-amostras de alumínio coberto com fita adesiva de carbono de dupla face. Em seguida, a amostra foi metalizada através da pulverização com prata (Ag), depois a amostra foi recoberta com aproximadamente 20 nm de Ag (120 segundos, vácuo 2.10^{-2} mbar, corrente de 20 mA), em metalizadora/evaporadora (Kurt J. Lesker Company 108). As fotomicrografias foram geradas no modo topográfico a 10 kV (detector de elétrons secundário), com aumentos de 200x, 500x e 1000x.

4.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ESHP POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A DETECTOR DE ARRANJO DE FOTODIODOS (CLAE-DAD)

4.5.1 Preparo das amostras para análises em CLAE-DAD

A amostra de ESHP foi diluída em uma solução de MeOH/água milli-q (50:50 v/v) nas concentrações de 100 µg/mL. As soluções obtidas para a análise por CLAE-DAD foram filtradas através de um filtro de membrana politetrafluoroetileno hidrofílico (PTFE/L) de 0,45 µm, antes da injeção no cromatógrafo.

4.5.2 Metodologia analítica

As análises por CLAE foram realizadas em um cromatógrafo líquido Shimadzu equipado com um degaseificador DGU-20A3, um injetor automático SIL-20A, duas bombas LC-20AD, detector de arranjo de diodo SPD-M20Avp (DAD) acoplados a uma interface CBM-20A. A separação analítica foi realizada através de uma coluna C18 de fase reversa de 250 x 4,6 mm (5 µ tamanho de partícula). O método analítico empregou um sistema de gradiente de eluição utilizando como fase móvel MeOH/água milli-q: ácido acético 1,0 %, com uma taxa de fluxo de 0.6 mL/min e um volume de injeção da amostra de 20 µL. Após a otimização do método, o gradiente de eluição variou de 10 a 60% da concentração de MeOH, durante 60 minutos (**Tabela 1**). O comprimento de onda usado para a detecção dos compostos foi de 340 nm.

Tabela 3: Gradiente de eluição após a otimização do método.

Tempo (minutos)	B% (Metanol)
0,01	10
5	15
10	15
15	20
20	20
25	20
30	40
40	60
45	40
50	20
55	10
60	Stop

Os compostos foram identificados comparando o seu tempo de retenção com o tempo de retenção da sua substância padrão equivalente e pela análise dos seus espectros de massa. As análises quantitativas foram realizadas por meio das curvas de calibração dos padrões.

4.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS DO ESHP

O conteúdo de fenólicos totais no ESHP foi determinado utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia descrita por Swain e Hillis (1959), com algumas modificações. Uma alíquota de 12,5 µL do ESHP (50 µg/mL) foi misturada a 200 µL de água destilada e agitada. Em seguida, foram adicionados 12,5 5µL do reagente de Folin-Ciocalteu e a mistura foi agitada novamente. Após 3 minutos foram adicionados 25 µL de uma solução saturada de carbonato sódico (Na₂CO₃). A amostra foi incubada no escuro, a temperatura ambiente, por 1 h. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 720

nm. O ácido gálico (AG) foi utilizado para obtenção de uma curva de calibração, a qual foi obtida fazendo o uso de seis diluições (12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 µg/mL). Os resultados foram expressos como mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de extrato. MeOH puro foi usado como controle negativo (branco). Todas as análises foram realizadas em triplicata. A **Equação 3** da curva de calibração, obtida através de regressão linear, apresentada abaixo:

$$A = 0,0041C + 0,0143 \quad (R^2 = 0,999) \quad \text{(Equação 3)}$$

Onde: A representa a absorvância medida;

C a concentração de EAG.

4.7 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES TOTAIS DO ESHP

O teor flavonoides totais presente no ESHP foi determinado pelo método do cloreto de alumínio (AlCl_3), o qual baseia-se na medida da absorvância, a 510 nm, do complexo formado entre os flavonoides e o alumínio do reagente, formando complexos de coloração rosa avermelhada. Em uma microplaca, uma alíquota de 25 µL do ESHP (100 µg/mL) foi misturada com água destilada (100 µL) e, posteriormente, foi adicionada uma solução de NaNO_2 5% (7,5 µL). Após 6 minutos, foi acrescentada uma solução de AlCl_3 10% (7,5 µL) e a solução foi mantida em repouso por mais 6 minutos. Em seguida, foram adicionados 100 µL de uma solução de NaOH 4% e 10 µL de água destilada. A solução foi mantida em repouso durante 15 minutos, a temperatura ambiente. Água destilada foi usada como controle negativo (branco). O flavonoide (+)-catequina foi utilizado para preparar uma curva padrão (12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 µg/mL) e os resultados foram expressos em equivalente de catequina (ECAT) por grama de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata. O teor de flavonoides totais foi calculado a partir da **Equação 4** da curva de calibração, obtida por regressão linear, conforme demonstrado abaixo:

$$A = 0,0022C - 0,0539 \quad (R^2 = 0,999) \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde: A representa a absorvância;

C a concentração de equivalente de catequina.

4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ESHP

Esta etapa foi realizada no Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Sergipe, em parceria com a professora Dra. Ana Mara de Oliveira e Silva.

4.8.1 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZIL (DPPH•)

Para a avaliação da capacidade antioxidante do ESHP frente ao radical livre DPPH•, foi método empregado por Blois (1958) e Brand-Willians e colaboradores (1995) com modificações. Em uma microplaca, foram adicionados 50 µL do ESHP nas concentrações de 1, 10, 30, 50 e 100 µg/mL. Em seguida, foram adicionados 150 µL radical DPPH•. As amostras foram incubadas no escuro a temperatura ambiente, por 30 min. Água destilada foi usada como controle negativo (branco). A leitura da absorbância foi realizada a 515 nm. A avaliação da atividade antioxidante foi realizada em triplicata e os valores de absorbância foram expressos como percentagem de inibição do radical DPPH•, conforme **Equação 5**:

$$\text{Inibição de DPPH} = \frac{\text{Controle-teste}}{\text{controle}} \times 100 \quad \text{(Equação 5)}$$

A concentração inibitória 50% (CI₅₀) do ESHP foi determinada pelo percentual de varredura do radical DPPH•. Trolox (100 µg/mL) foi utilizado como controle positivo. Os valores de percentual de varredura foram comparados como o meio reacional sem adição do extrato (branco) e/ou controle positivo.

4.8.2 Capacidade antioxidante pelo ensaio de potencial reducional de ferro (FRAP)

Para a determinação do potencial reducional de ferro (FRAP) pelo ESHP foi realizado conforme o método Oyaizu (1986) com algumas modificações. Em uma microplaca, foram adicionados 9,0 µL do ESHP nas concentrações de 1, 10, 30, 50 e 100 µg/mL, em seguida foram adicionados: 27 µL de água destilada e 270 µL de FRAP (10,0 mL de tampão acetato 0,3 mol/L + 1,0 mL de cloreto de ferro (FeCl₃) 20 mmol/L + 1,0 mL de TPTZ 10 mmol/L). A mistura reacional foi incubada a 37 °C, por 30 min, no escuro. Água destilada foi usada como controle negativo (branco). A absorbância foi mensurada a 595 nm. Trolox (300 µg/mL) foi usado como controle positivo. Uma curva padrão de sulfato ferroso (FeSO₄) foi gerada e a equação linear foi usada para calcular o FRAP do extrato. Os valores foram comparados como o meio reacional sem adição de extrato (branco) e/ou controle positivo.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESHP

5.1.1 Determinação do teor de umidade em balança com infravermelho, determinação da densidade bruta (ρ_b) e de compactação (ρ_c), fator de Hausner (FH) e índice de compressibilidade (IC)

De acordo com Costa e colaboradores (2009) a umidade é um importante parâmetro de qualidade, tendo em vista que teores elevados de água favorecem o crescimento microbiano, proliferação de insetos e reações de hidrólise que podem levar a degradação do material.

De acordo com Costa e colaboradores (2016), a determinação da densidade bruta e de compactação diz respeito ao volume que o extrato ocupa, bem como estimar o desempenho em formulações sólidas e a influência das embalagens utilizadas para armazenamento.

O extrato seco também foi analisado quanto as suas características farmacotécnicas através dos índices de fluidez e de acomodação dos pós.

De acordo com Garcia e colaboradores (2012), o fator de *Hausner* (FH) relaciona a densidade bruta e a densidade de compactação com a fricção entre as partículas, podendo, assim, estimar as propriedades dos pós, ou seja, pós com baixa fricção, como por exemplo, com tamanhos elevados de partículas. Pós com FH entre 1,0 a 1,11 apresentam excelente fluxo, pós com FH entre 1,12 e 1,18 fluxo bom, pós com FH entre 1,19 e 1,25 fluxo fraco, pós com FH entre 1,26 e 1,45 fluxo pobre e pós com FH maiores que 1,5 apresentam fluxo muito pobre.

Segundo Garcia e colaboradores (2012), em relação ao índice de compressibilidade (IC) pós que apresentam IC entre 5 e 15%, são considerados de fluidez excelente, pós com IC de 12 a 16%, são considerados com bom fluxo, pós com IC de 18 a 21% de fluidez escassa, IC de 22 a 35%, são considerados de fluxo fraco, de 35 a 38%, são considerados de fluxo muito fraco e pós com IC maiores que 40%, são considerados extremamente fracos.

Tabela 4: Resultados do teor de umidade do ESHP e dos índices de fluidez e compressibilidade.

Testes	n	X \pm DP
Teor de umidade (% massa seca)	3	3,49 \pm 0,28
Densidade bruta (ρ_b) (g/mL)	3	0,19 \pm 0,004
Densidade de compactação (ρ_c) (g/mL)	3	0,30 \pm 0,010
Fator de Hausner (FH)	3	1,47 \pm 0,08
Índice de compressibilidade (%)	3	32,0 \pm 0,037

η : número de amostras; X: média dos resultados independentes; DP: desvio padrão.

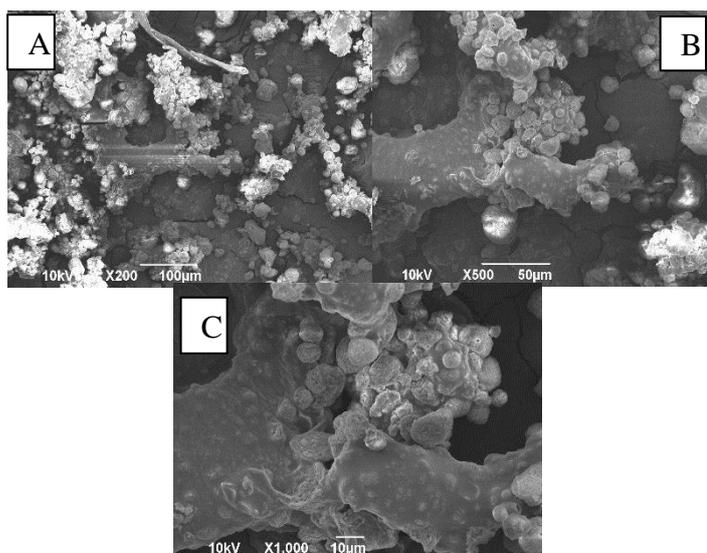
Ao analisar o teor de umidade, é possível observar que como apresenta um teor de umidade baixo a capacidade em reter água e promover a proliferação microbiana é baixa. Além de observar os quesitos da densidade bruta e de compactação, observa-se que o pó apresenta um baixo volume quanto ao local que ele ocupa.

De acordo com os resultados apresentados na tabela 2, é possível afirmar que o ESHP apresenta baixa fluidez. Ao saber que o IC representa o fluxo do pó, o resultado apresentado pelo ESHP apresenta um fluxo muito fraco, isso significa que é ruim em fazer a distribuição desse pó. Além de que, o FH do ESHP determinou que ele apresentou um fluxo pobre. Sendo assim, um pó que apresenta essa característica tem baixa probabilidade em atender aos requisitos farmacotécnicos e de controle de qualidade das formas sólidas (GARCIA et al., 2012).

5.1.2 Análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A **figura 2**, mostra as fotomicrografias do ESHP obtidas por MEV com aumentos de 200x, 500x e 100x. As partículas apresentaram o perfil característico de produtos atomizados. De acordo com Oliveira e Petrovick (2009) as partículas apresentam superfície esférica lisa, tamanhos distintos e aglomeradas.

Figura 2: Fotomicrografias do ESHP obtidas por MEV observadas em diferentes aumentos 200x (A), 500x (B) e 100x (C).



As imagens evidenciam a heterogeneidade do extrato produzido, apresentando partículas de diferentes dimensões e formas. Em geral, os extratos secos obtidos por *spray-*

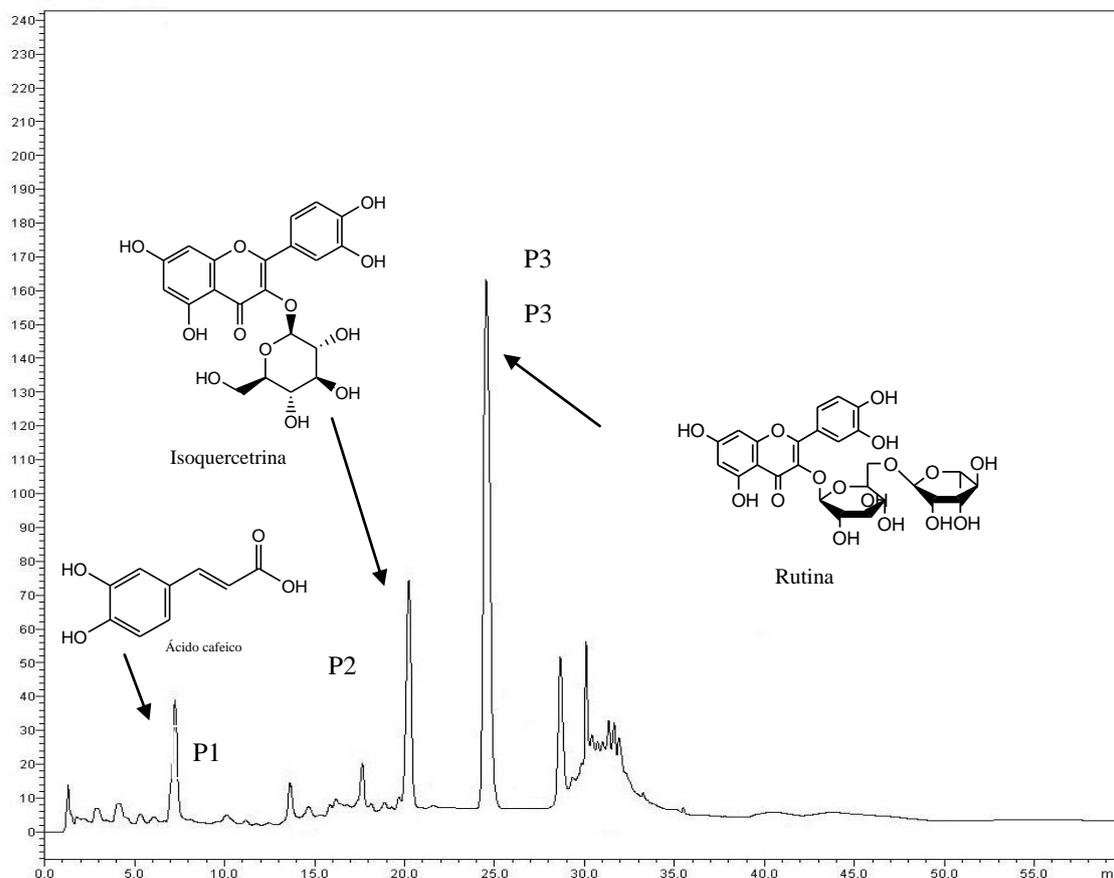
dryer apresentam partículas com formato arredondado (OLIVEIRA; PETROVICK, 2009; SOARES et al., 2005).

5.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ESHP

Para a caracterização do ESHP optou-se pelo emprego de um sistema de eluição em gradiente linear. A fase móvel foi constituída por uma mistura de MeOH/Água acidificada com ácido acético 1% (v/v), o que proporcionou uma melhor resolução e separações dos picos cromatográficos, fato que permitiu uma comparação qualitativa com substâncias de referência.

A **figura 3**, mostra a identificação dos compostos do ESHP em função do tempo de corrida, dessa forma, é possível observar que todos os compostos foram identificados em tempo inferior a 40 min. Os picos foram identificados pelo tempo de retenção e comparação dos seus espectros de ultravioleta com substâncias de referência.

Figura 3: Perfil cromatográfico do ESHP a 340 nm. P1: ácido cafeico ($C_9H_8O_4$), P2: isoquercitrina (quercetina 3- β -O-glicosídeo) ($C_{21}H_{20}O_{12}$), P3: rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$).



O perfil cromatográfico do ESHP por CLAE-DAD revelou a presença de três picos bem separados e com boa resolução. O tempo de retenção para os picos 1, 2 e 3 foram 7, 20 e 25

minutos, respectivamente P1, P2 e P3 foram identificados como ácido cafeico, isoquercitrina e rutina, respectivamente.

De acordo com os resultados apresentados na **figura 3**, podemos afirmar que o método extrativo não influenciou significativamente nos tempos de retenção, permitindo que o ESHP fosse caracterizado. Já que ao comparar a SEHP com o ESHP, os tempos de retenção foram similares e as substâncias que foram encontradas foram as mesmas. Sendo as três conhecidas por suas atividades antioxidantes, especialmente rutina e quercetina.

5.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS

Os compostos fenólicos de origem vegetal podem atuar como agentes sequestradores de radicais livres, quelantes de metais, agentes redutores ou desativadores de oxigênio *singlet* (FERRERA et al., 2016).

Tabela 5: Resultado da determinação do teor de fenólicos e flavonoides totais do ESHP.

Teste	Concentração	X ± DP
Fenólicos totais (Equivalente de ácido gálico ± DP (mg/g))	50 µg/mL	824,06 ± 1,12
Flavonoides totais (Equivalente de catequina ± DP (mg/g))	100 mg/mL	187,95 ± 3,31

X: média dos resultados independentes; DP: desvio padrão.

O resultado de composto fenólicos encontrado foi superior ao descrito por Paixão e colaboradores (2013) ($155,02 \pm 11,33$ mg EAG/g de extrato), para o extrato aquoso de *H. pectinata*. As diferenças entre o conteúdo de fenólicos e de flavonoides totais pode ser

influenciado por diversos fatores como cultivo, solo, floração, estágio de maturação, coleta, armazenamento e processamento (SOARES et al., 2008).

O valor de flavonoides totais também pode ter sido tão abaixo do valo já que foi realizado o teste com a catequina, que é um flavonol e não um composto de referência para a realização dessa determinação.

5.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

5.4.1 Capacidade antioxidante pelo método DPPH•

O teste utilizando o radical estável DPPH• mede a capacidade das substâncias testadas em doar hidrogênio radicalar a este radical, assim, quanto maior o número de hidroxilas presentes na amostra, maior sua atividade antioxidante. A estabilidade do radical formado é outro fator que influencia no potencial antioxidante, sendo maior nas substâncias que possuem maior capacidade de deslocalizar o radical pela estrutura (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

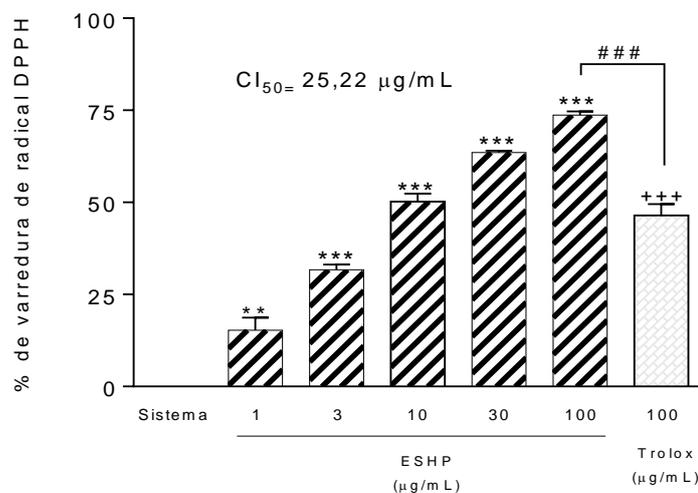
Analisando a capacidade de sequestro do radical DPPH•, podemos observar que a ação antioxidante do ESHP demonstra efeito dose-dependente em percentuais de varredura do radical.

Ao comparar cada concentração do ESHP com o sistema (meio reacional sem o extrato) observou-se que o ESHP promoveu a varredura do radical DPPH• em todas as concentrações analisadas ($p < 0,05$). O valor calculado de IC_{50} para o ESHP foi de $25,22 \mu\text{g/mL}$. O ESHP na concentração de $100 \mu\text{g/mL}$, apresentou potencial de varredura de $73,68 \pm 1,02\%$, diferindo significativamente ($p < 0,05$) do padrão positivo Trolox ($100 \mu\text{g/mL}$) que atingiu $46,48 \pm 3,03\%$.

Ao comparar esses resultados, é possível observar que o ESHP apresentou em concentrações iguais um resultado maior de varredura do radical DPPH•, portanto tendo uma ação antioxidante mais eficiente que o Trolox. Em geral, o potencial antioxidante das espécies vegetais pode ser atribuído devido a presença de substâncias fenólicas em sua composição química.

O resultado deste ensaio sugere o potencial do ESHP em atuar contra espécies reativas de oxigênio, como a hidroxila e o ânion superóxido em sistemas orgânicos. Isso ocorre devido a presença de flavonoides na constituição metabólica do ESHP. A rutina e quercetina que foram encontradas na caracterização química estão diretamente relacionadas com essa alta capacidade antioxidante. (ABOZED et al., 2014).

Figura 4: Percentual de varredura do radical DPPH•, em função das concentrações de ESHP.



Os resultados representam a média \pm E. P. M. das porcentagens de inibição *in vitro*, em triplicata. O Trolox foi usado como antioxidante padrão. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Tukey. Extrato *versus* respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ou $p < 0,001$; padrão Trolox *versus* sistema: + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$ ou +++ $p < 0,001$; extrato *versus* padrão Trolox: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ ou ### $p < 0,001$.

5.4.2 Capacidade redutora do ferro (método FRAP)

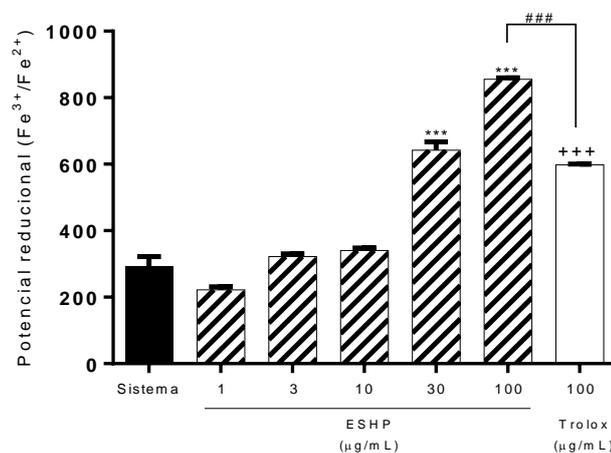
O método FRAP baseia-se na redução do íon Fe^{3+} (forma férrica), presente no complexo TPZZ, a Fe^{2+} (forma ferrosa). Essa redução leva a uma mudança de coloração do meio reacional que passa a ser um azul intenso. Sendo assim, quanto maior for a intensidade da coloração e/ou a absorbância, maior é o potencial antioxidante da amostra (URREA-VICTORIA et al., 2016).

Analisando a capacidade redutora de ferro do ESHP, podemos observar que houve proporcional ao aumento da concentração do extrato. A partir da concentração de 1 µg/mL já é possível observar o potencial redutor do ESHP, com o aumento da concentração essa capacidade vai aumentando também. Sendo que ao comparar com o Trolox, nas concentrações de 30 e 100 µg/mL o ESHP ultrapassa a capacidade do Trolox em reduzir o ferro.

O potencial redutor de ferro do ESHP pode estar associado, à presença de compostos redutores com atividade antioxidante baseada no bloqueio de radicais livres por doação de um átomo de hidrogênio. É importante destacar que os compostos redutores impedem a formação de peróxidos por reagirem com outros percussores, atenuando a progressão da reação em

cadeia para formação de radicais livres (CASTELOBRANCO; TORRES, 2011; SHARID e ZHONG, 2015).

Figura 5: Capacidade redutora do ferro, em função das concentrações de ESHP.



Os resultados representam a média ± E. P. M. das porcentagens da capacidade de redução do ferro, em triplicata. O Trolox foi usado como antioxidante padrão. ANOVA de uma via seguido pelo pós teste de Tukey. Extrato *versus* respectivo sistema (meio reacional sem o antioxidante): * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ ou $p < 0,001$; padrão Trolox *versus* sistema: + $p < 0,05$, ++ $p < 0,01$ ou +++ $p < 0,001$; extrato *versus* padrão Trolox: # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ ou ### $p < 0,001$.

6 CONCLUSÃO

Quanto a obtenção do extrato seco por nebulização, o pó apresenta uma baixa fluidez necessitando, assim de adjuvantes farmacêuticos para melhorar as características farmacotécnicas caso seja incorporado em formas farmacêuticas sólidas. Foi possível caracterizar o ESHP, em que se observou que mesmo ao comparar a solução extrativa com o extrato seco os pontos de isoquercetina, ácido cafeico e rutina foram identificados no mesmo tempo que o descrito na literatura. A atividade antioxidante, apresentou resultados significativos em comparação com o padrão comercial, tal atividade pode estar relacionada a presença de compostos fenólicos, principalmente flavonoides.

Portanto, o ESHP apresenta-se como um produto inovador para o desenvolvimento e produção de fitoterápicos, que irão atuar como anti-inflamatórios, antimicrobiano, cicatrizante, podendo se tornar um produto mais acessível à população. .

7 REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F. et al. Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 111, n. 2, p. 383–395, 2007.
- ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino De; OLIVEIRA, Rosilane Ferreira De. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 113, n. 1, p. 156–170, 2007.
- ALVES CQ, DAVID JM, DAVID JP, BAHIA MV, AGUIAR RM. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Quim Nova*.2010;33(10):2202-10.
- ANVISA, Brasil. Farmacopeia Brasileira. Farmacopeia Brasileira, 5a edição, [s. l.], v. 2, p. 1–523, 2010.
- ARRIGONI-BLANK, M. F. et al. Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 334–339, 2008.
- ARRIGONI-BLANK, M. F.; R. SILVA-MANN, R.; CAMPOS, D. A.; SILVA, P. A.; ANTONIOLLI, A. R.; CAETANO, L. C.; SANT’ANA, G.; BLANK, A. F., 2005. Morphological, agronomical and pharmacological characterization of *Hyptis pectinata* (L.) Poit germplasm. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 15(4):298-303.
- BADKE; M. R.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc Anna Nery**, v. 15, n 1, p. 132-139, 2011.
- BARREIROS ALBS, DAVID JM, DAVID JP. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*.2006;29(1):113-23.
- BASÍLIO, Ionaldo José Lima Diniz et al. Estudo farmacobotânico comparativo das folhas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. e *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 518–525, 2006.
- BISPO, M. D. et al. Antinociceptive and antiedematogenic effects of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* leaves in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 76, n. 1, p. 81–86, 2001.
- BOALINO, Dionne M. et al. α -Pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 64, n. 7, p. 1303–1307, 2003.
- Brandão, Gustavo Henrique Azevedo. **Alcaloides de *Melocactus zehntneri* Cactaceae: extração sustentável e atividade farmacológica**. MS thesis. Brasil, 2016.
- Brasil- Ministério da Saúde- Instrução Normativa nº 4 de 18 de julho de 2014, ANVISA, Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico, 2014. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2501251/Guia%2Bfinal%2Bdicol%2B180614+%282%29.pdf/f400c535-e803-4911-9ef8-100c0c2bb3c6>>.
- Brasil- Ministério da Saúde- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares do SUS, 2006a. Disponível http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria971_03_05_06.pdf
- Brasil- Ministério da Saúde- Portaria nº 533 de 28 de Março de 2012, 2012. Disponível http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2012/prt0533_28_03_2012.html

Brasil- Ministério da Saúde- Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, 2009. Disponível http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Decreto 5.813, de 22 de junho de 2006. Brasília, Ministério da Saúde, 2006b.

BUENO, A. X. **Efeitos do Extrato aquoso obtido das folhas da *Hyptis Pectinata* (sambacaitá) sobre o sistema nervoso central de roedores.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Medicina da Universidade Federal de Sergipe, em obtenção ao grau de Mestre em Ciências da Saúde. 94 p, 2005.

CARVALHO, J. S. B.; MARTINS, J. D. L; MOREIRA, K. A. Respostas fisiológicas de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. ao estresse hídrico. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 12, n. 2, p. 20-28, 2012.

CAVALCANTE, Carlos Eliardo Barros et al. Comportamento higroscópico da polpa de graviola em pó obtida por secagem em spray dryer. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l.], v. 21, 2018.

CHHABRA, S. C.; MAHUNNAH, R. L. A.; MSHIU, E. N. Plants used in traditional medicine in Eastern Tanzania. III. Angiosperms (Euphorbiaceae to Menispermaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 3, p. 255–283, 1990.

CLARKSON, Cailean et al. In vitro antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 92, n. 2–3, p. 177–191, 2004.

DA SILVA RAMOS, Ryan et al. Chemical Composition and in Vitro Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). **Scientific World Journal**, [s. l.], v. 2017, 2017.

DE ANDRADE PORTO, Karla R. et al. Screening of plant extracts and fractions on *Aedes aegypti* larvae found in the state of Mato Grosso do Sul (Linnaeus, 1762) (Culicidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s. l.], v. 89, n. 2, p. 895–906, 2017.

DE SÁ, Stone et al. Chemical composition and seasonal variability of the essential oils of leaves and morphological analysis of *Hyptis carpinifolia*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 26, n. 6, p. 688–693, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.05.011>

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. Dos; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante, Ciência e Tecnologia de Alimentos v. 26, p. 446-452, 2006.

DUTRA, Rafael C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, [s. l.], 2016.

FALCÃO, D. Q.; MENEZES, F. S. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. The *Hyptis* genus: an ethnopharmacological and chemical review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 84, n. 3, p. 69–74, 2003.

FALCAO, Rosangela A. et al. Antileishmanial phenylpropanoids from the leaves of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2013, 2013.

- FALCÃO, Rosângela E. A. et al. Evaluation of the orofacial antinociceptive profile of the ethyl acetate fraction and its major constituent, rosmarinic acid, from the leaves of *Hyptis pectinata* on rodents. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 26, n. 2, p. 203–208, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.029>>
- FEITOSA-ALCANTARA, Rosana B. et al. Essential oils of *Hyptis pectinata* chemotypes: Isolation, binary mixtures and acute toxicity on leaf-cutting ants. **Molecules**, [s. l.], v. 22, n. 4, 2017.
- FERRERA, T. S. et al. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em ervaíras sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 18, n. 2 suppl 1, p. 588–596, 2016.
- FRAGOSO-SERRANO, Mabel; GIBBONS, Simon; PEREDA-MIRANDA, Rogelio. Anti-staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. **Planta Médica**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 278–280, 2005.
- GARCIA, Ariane Quilles Rocha; PEREIRA, Tamires Cristina Borgomani; DIAS, Iara Lúcia Tescarollo. Estudo das propriedades de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 4, p. 469-475, 2012
- GITHINJI, Catherine W.; KOKWARO, J. O. Ethnomedicinal study of major species in the family Labiatae from Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 39, n. 3, p. 197–203, 1993.
- JAHDAV, T. R.; MOON, R. S. Review on lyophilization technique. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. [s.l] v. 4, n. 5, p. 1906-1928, 2015.
- JESUS, A. S. et al. Influence of storage time and temperature on the chemical composition of the essential oil of *Hyptis pectinata* L. Poit [Influência do tempo de armazenamento e da temperatura na composição química do óleo essencial de *Hyptis pectinata* L. Poit]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 336–340, 2016.
- KOBA, K. et al. Chemical Composition of *Hyptis pectinata* L., *H. lanceolata* Poit, *H. suaveolens* (L) Poit and *H. spicigera* Lam. Essential Oils from Togo. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 357–364, 2007.
- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**. [s.l] v.3, n3 p. 14-24, 2007.
- LISBOA, Ana C. C. D. et al. Antinociceptive effect of *Hyptis pectinata* leaves extracts. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 77, n. 6, p. 439–442, 2006.
- MALAN, Kla et al. The essential oil of *Hyptis pectinata*. **Medica**, [s. l.], v. 5, p. 531–532, 1988. Disponível em: <<https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-962540>>
- MAMADALIEVA, Nilufar et al. Aromatic Medicinal Plants of the Lamiaceae Family from Uzbekistan: Ethnopharmacology, Essential Oils Composition, and Biological Activities. **Medicines**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 8, 2017.
- MARMITT, D. J.; REMPEL, R.; GOETTERT, M. I.; SILVA, A. C. Análise sistemática da produção científica do Zingiber Offiinale Roscoe após a criação da relação nacional de plantas medicinais de interesse ao sistema único de saúde. **Arq. Ciênc. Saúde**, v. 22, n. 4, p. 14-21, 2015a.

- MARMITT, Diorge J. et al. Plantas Medicinais da RENISUS Com Potencial Anti-inflamatório: Revisão Sistemática Em Três Bases de Dados Científicas. **Revista Fitos**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 129–144, 2015b.
- MARMITT, Diorge Jônatas et al. Scientific production of plant species included in the Brazilian national list of medicinal plants of interest to the unified health system (RENISUS) from 2010 to 2013. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 123–132, 2016.
- MARTINS, Paula M. et al. Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. [s.l] v 27, p-510-518, 2017.
- MELO, G. B. et al. Effect of the aqueous extract of *Hyptis pectinata* on liver mitochondrial respiration. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 359–362, 2005.
- MENEZES, Paula, P. Physicochemical Characterization and Analgesic Effect of Inclusion Complexes of Essential Oil from *Hyptis pectinata* L. Poit Leaves with β -Cyclodextrin. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, [s.l] v 16, n. 5, 2015.
- MIGLIATO, K. F.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS. **Quim. Nova**, [s.l] v. 34, n. 4, p. 695-699, 2011.
- MIRZAEI, Motahareh et al. Phylogenetic Analysis of Selected Menthol-Producing Species Belonging to the Lamiaceae Family. **Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids**, [s. l.], v. 34, n. 9, p. 650–657, 2015.
- MONTEIRO, Julio Marcelino et al. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 105, n. 1–2, p. 173–186, 2006.
- NASCIMENTO, P. F. C. et al. *Hyptis pectinata* essential oil: Chemical composition and anti-*Streptococcus mutans* activity. **Oral Diseases**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 485–489, 2008.
- OLIVEIRA, G. S.; COSTA, J. M. C.; AFONSO, M. R. A. Caracterização e comportamento higroscópico do pó da polpa de cajá liofilizada. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. [s.l] v.18, n.10, p.1059–1064, 2014.
- OLIVEIRA, Olivia Werner; PETROVICK, Pedro Ros. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: Bases e aplicações. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 641–650, 2010.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por CLAE-DAD de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Rev. Bras. Pl. Med.** [s. 1] v.18, n.1, p.230-239, 2016.
- PAIXÃO, M. S. et al. *Hyptis pectinata*: Redox protection and orofacial antinociception. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 27, n. 9, p. 1328–1333, 2013.
- PEREDA-MIRANDA, Rogelio et al. Structure and stereochemistry of pectinolides a-C, novel antimicrobial and cytotoxic 5, 6-dihydro- α -pyrones from *hyptis pectinata*. **Journal of Natural Products**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 583–593, 1993.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*,63: 1035-1042,2000.
- PIETSCHMANN, Michaela et al. Volatile constituents of *hyptis pectinata* poit. (lamiaceae). **Journal of Essential Oil Research**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 550–552, 1998.

- QUINTANS-JÚNIOR, Lucindo J. et al. Nanoemulsion Thermoreversible Pluronic F127-Based Hydrogel Containing Hyptis pectinata (Lamiaceae) Leaf Essential Oil Produced a Lasting Anti-hyperalgesic Effect in Chronic Noninflammatory Widespread Pain in Mice. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 1665–1675, 2018.
- RAJA, R. R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. **Res. J. Med. Plant**, 6(3):203-213, 2012.
- RAYMUNDO, L.J.R.P.; GUILHON, C. C.; ALVIANO, D. S.; MATHEUS, M. E.; ANTONIOLLI, A. R.; CAVALVANTI, S. C. H.; ALVES, P. B.; ALVIANO, C. S.; FERNANDES, P. D. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the Hyptis pectinata (L.) Poit essential oil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 134, p. 725-732, 2011.
- RICARDO, L. M.; GOULART, E. M. A.; BRANDÃO, M. G. L. Plantas medicinais da Bacia do Rio das Velhas: Avaliação das condições para produção e uso em saúde pública. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 398–406, 2015.
- RODRIGUES, E; CARLINI, E, L, A. **A importância dos levantamentos etnofarmacológicos no desenvolvimento de fitomedicamentos**. Revista Racine, **70**, 30-35, 2002.
- ROJAS, Alejandra et al. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 275–283, 1992.
- SANTOS, Patrícia, O. S. et al., Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Hyptis pectinata (L.) Poit. **Quim. Nova**, [s.1] v. 31, n. 7, p. 1648-1652, 2008.
- SERAFINI, M. R.; VERGNE, D. M. C.; MENEZES, P. P.; JOÃO P.A. SANTOS, J.; RABELO, T. K.; SARAVANAN, S.; ALVES, P. B.; COSTA, E. V.; JESUS, H. C. R.; SALVADOR, M. J.; GELAIN, D. P.; MOREIRA, J. C. F.; ROCHA, R. F.; ARAÚJO, A. A. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Characterization and Evaluation of the Antioxidant Activity of Calamusedione, a Major Component of Hyptis pectinata (L.) Poit Essential Oil. **Letters in Drug Design & Discovery**, 14:1-9, 2017.
- SERAFINI, M. R.; VERGNE, D. M. C.; RABELO, T. K.; MENEZES, P. P.; ROCHA, R. F.; MOREIRA, J. C. F.; SILVA, F. A.; ALVES, P. A.; RAMOS-JESUS, H. C.; ARAÚJO, A. A. S.; GELAIN, D. P. Determination of chemical and physical properties of Hyptis pectinata essential oil and their redox active profile. **Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research**. v. 3, n 1, p. 1-9, 2012.
- SHARMA, Ashutosh et al. Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 208, p. 264–329, 2017.
- SILVA, R. L.; MELO, G, B.; ANTONIOLLI, A. R.; LIMA, S. O.; MELO, V. A.; RAMALHO, F. S.; RAMALHO, L. N. Z.; ZUCOLOTO, S.; SILVA-JÚNIOR, O. C. Effect of the aqueous extract of hyptis pectinata on hepatocyte proliferation after partial hepatectomy. **Acta Cirúrgica Brasileira** v. 17, n. 3, p. 101-105, 2002.
- SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on Aedes aegypti larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 99, n. 8, p. 3251–3255, 2008.
- SOARES, Luís. A. L. et al. Dry Granulation and Compression of Spray-Dried Plant Extracts. **AAPS PharmSciTech**. [s.1] v. 6, n. 3, p. 359-366, 2005.

SSEGAWA, Paul; KASENENE, John Massan. Medicinal plant diversity and uses in the Sango bay area, Southern Uganda. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 113, n. 3, p. 521–540, 2007.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **J. Sci. Food Agric.** [s.1] v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

TCHOUMBOUGNANG, F. et al. Aromatic plants of tropical Central Africa. XLVIII. Comparative study of the essential oils of four *Hyptis* species from Cameroon: *H. lanceolata* Poit., *H. pectinata* (L.) Poit., *H. spicigera* Lam. and *H. suaveolens* Poit. **Flavour and Fragrance Journal**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 340–343, 2005.

Teixeira¹, João Batista Picinini, José Vinícius dos Santos, and TNC UFJF. "**Fitoterápicos e interações medicamentosas.**" (2011).

TENE, Vicente et al. An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Loja and Zamora-Chinchi, Ecuador. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 111, n. 1, p. 63–81, 2007.

TORRES, Daniel S. et al. INFLUÊNCIA DO MÉTODO EXTRATIVO NO TEOR DE FLAVONOÍDES DE *Cnidioscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE. **Quim. Nova**, [s.1] v. 41, n. 7, p. 743-747, 2018.

URREA, V.V.; PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D.Y.A.; CHOW, F. Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências**, p.1-6, 2016.

VASCONCELOS, E. A. F. et al., Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil®200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. [s.1] v. 15, n.3, p. 243-249, 2005.

VASCONCELOS T.B., CARDOSO A.R., JOSINO J.B., MACENA R.H., BASTOS V.P. Radicais Livres e Antioxidantes: Proteção ou Perigo? **UNOPAR Cient Cienc Biol Saude**. 2014;16(3):213-9