

**UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO – UNAERP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Uncaria guianensis* SOBRE AS ALTERAÇÕES  
CARDIOVASCULARES DECORRENTES DA HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR**

**GUSTAVO MARIN ARADO**

**RIBEIRÃO PRETO - SP**

**Dezembro – 2023**

**UNIVERSIDADE DE RIBEIRÃO PRETO – UNAERP**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Uncaria guianensis* SOBRE AS ALTERAÇÕES  
CARDIOVASCULARES DECORRENTES DA HIPERTENSÃO  
RENOVASCULAR**

**Orientadora:** Profa. Dra. Ana Maria Soares Pereira

**Coorientadora:** Profa. Dra. Juliana da Silva Coppede

Tese apresentada à Universidade de Ribeirão  
Preto – UNAERP, para obtenção de título de  
Doutor em Biotecnologia.

**Ribeirão Preto – SP**

**Dezembro – 2023**

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento  
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

ARADO, Gustavo Marin, 1979-

A658e Efeitos do extrato de *Uncaria guianensis* sobre as alterações  
cardiovasculares decorrentes da hipertensão renovascular / Gustavo  
Marin Arado. – Ribeirão Preto, 2023.

57 f. : il. color.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Maria Soares Pereira .

Tese (Doutorado) - Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP,  
Doutorado em Biotecnologia, 2023.

**GUSTAVO MARIN ARADO**

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Uncaria guianensis* SOBRE AS ALTERAÇÕES  
CARDIOVASCULARES DECORRENTES DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR**


Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

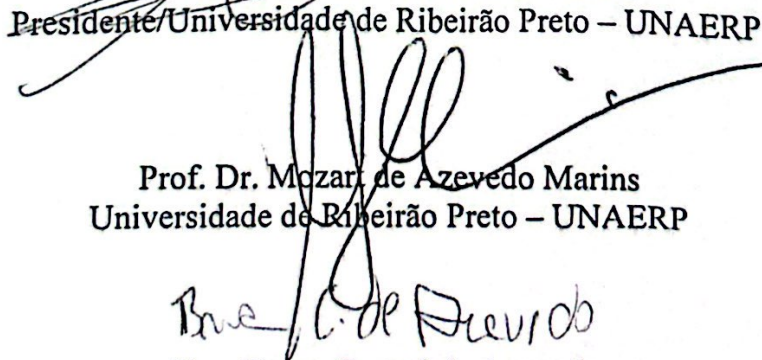
Área de Concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde


Data da defesa: 14 de dezembro de 2023


Resultado: Aprovado

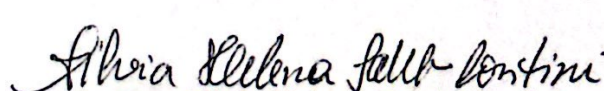
**BANCA EXAMINADORA**

  
Prof. Dra. Ana Maria Soares Pereira  
Presidente/Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP

  
Prof. Dr. Mozart de Azevedo Marins  
Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP

  
Dra. Bruna Cestari de Azevedo  
Hospital Israelita Albert Einstein

  
Prof. Dra. Camila Carla Guimarães  
Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza – FATEC

  
Prof. Dra. Silvia Helena Taleb Contini  
Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP

## **Oferecimento**

Ofereço esta tese à minha dedicada e paciente esposa Luciana de Andrade Arado, amor da minha vida, e à minha amada filha Yasmin de Andrade Arado, razão da minha existência. Sem vocês eu não teria alcançado nada nesta minha vida.

Agradeço,

A Deus por ter a chance de participar deste processo. Cada erro, cada acerto, cada decepção, cada episódio desta jornada me aproximou e me fez perceber ainda mais a sua presença.

A UNAERP – Universidade de Ribeirão Preto, que me deu a oportunidade, a estrutura, e o fomento para esta jornada.

A Prof<sup>a</sup> Doutora Elen Rizzi Sanches, que inicialmente me orientou neste trabalho, obrigado por ter me aceito como aluno, com todas as dificuldades que a minha orientação oferecia, e ainda sim, encarou o desafio. Obrigado pelos ensinamentos, pelos experimentos realizados e pelas palavras de incentivo.

Imensamente a hoje Enfermeira, e na época aluna da graduação da enfermagem e aluna de iniciação científica no laboratório da Prof<sup>a</sup> Elen Rizzi, Thaysa Carvalho de Faria que conduziu grande parte dos procedimentos experimentais desta tese. Você é uma pessoa excepcional, enfrentou a graduação, problemas de saúde, e tantas outras dificuldades, e finalizou seu projeto e ainda fez uma das maiores contribuições neste trabalho. Meus sinceros e profundos agradecimentos.

Aos anjos do laboratório, nossos técnicos Carla e Carlinhos, obrigado, por tudo, pelo sorriso, pelas críticas, pela ajuda com os animais, pelo zelo com o laboratório. Vocês são incríveis.

A Profa. Dra. Juliana da Silva Coppede, minha coorientadora, obrigado pela ajuda na parte experimental e em todo processo de redação da tese.

A todos os envolvidos na elaboração de nossa metanálise, um trabalho de muitas mãos e muitas cabeçadas. Ao estudante de medicina Pedro de Padua G. Amatto, e aos professores Doutores e Doutoradas, Juliana da Silva Coppede, Mozart Marins, Elen Rizzi, Suzelei de Castro França, Fábio Carmona e Ana Maria Soares Pereira.

A minha esposa e filha, Luciana e Yasmin, meus tesouros, obrigado pela tolerância, sei que não foi fácil. E aos meus pais, que sempre me deram todo suporte paternal, educacional e moral. Amo todos vocês.

E por fim, agradeço a Professora Doutora Ana Maria Soares Pereira por ter me aceito como aluno. A senhora é simplesmente excepcional. Alegre, séria, motivadora, organizada, prestativa, rigorosa, eficiente e iluminada. Obrigado pela orientação, pela condução brilhante dos trabalhos em nosso artigo de metanálise, nada disso teria feito sentido sem seu toque mágico. Não há como não ADMIRAR uma pessoa tão dedicada.

## LISTA DE ABREVIATURAS

IL-1	Interleucina 1
SAH	Systemic arterial hypertension
SBH	Sociedade Brasileira de Hipertensão
2K1C	Grupo 2 rins, um clipe
ANOVA	Análise de variância
AP-I	Proteína ativadora 1
AST	Área de secção transversal
CAD	Dissociação Ativada por Colisão
CLUE -EM	Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa
DHE	Dihidroetídio
ERRO	Espécies reativas de oxigênio
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
IL-6	Interleucina 6
MEC	Matrix extracelular
MMP	Enzimas metaloproteinases
MMP	Isoforma da MMP
NEM	N-etilmaleimida
NFE2L2	Fatores de transcrição nuclear derivado de eritrócito-like2
NFE2L2	Fatores de transcrição nuclear derivado de eritrócito-like2
NFkB	Fator nuclear Kappa B
NO	Óxido nítrico
PMSF	Fluoreto de fenil metil sulfonil
RDE	Relação droga extrato
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos
RENISUS	Relação Nacional de plantas de interesse do SUS
SEM	erro padrão da média
TIC	Corrente Iônica Total
TNF	Fator de necrose tumoral

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Página</b>
Figura 1	Alterações morfológicas induzidas pela atividade da MMP-2.....	19
Figura 2	Regulação da transcrição e da atividade da MMP-2 na HA.....	20
Figura 3	<i>Uncaria guianensis</i> : (A) folha, (B) caule, (C) flor e (D) fruto.....	23
Figura 4	Padrão zimográfico das bandas das isoformas de MMP-2.....	34
Figura 5	Estrutura molecular dos compostos caracterizados.....	35
Figura 6	Espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM): (A) padrão do ácido quínico, (B) padrão do ácido clorogênico e (C) extrato aquoso de <i>Uncaria Guianensis</i> .....	36
Figura 7	Espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM) (A) padrão de mitrafilina, (B) padrão de isomitrafilina e (C) extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> .....	37
Figura 8	Cromatograma DAD e espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM) (A) extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> , (B) espectros de massa do flavonoide canferitrina e (C) Espectro ultravioleta do flavonoide canferitrina.....	38
Figura 9	Efeito do tratamento com extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> nas doses de 50mg/kg e 200 mg/kg sobre a pressão arterial de ratos.....	39
Figura 10	Efeito do tratamento com extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> nas doses de 50mg/kg e 200 mg/kg sobre o peso de ratos.....	40
Figura 11	Efeitos dos tratamentos com extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> nas doses de 50mg/kg e 200mg/kg sobre a hipertrofia renal (A) e cardíaca (B).....	41
Figura 12	Zimografia da aorta, tratamentos com doses de 50mg/kg e 200mg/kg do extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> (A) Efeito dos tratamentos sobre a MMP-2 vascular (aorta), isoformas 75kDa (B), 72kDa (C),	

	64kDa (D) e somatória (E).....	42
Figura 13	Zimografia do coração, tratamentos com doses de 50mg/kg e 200mg/kg do extrato aquoso de <i>Uncaria guianensis</i> (A) Efeito dos tratamentos sobre a MMP-2 cardíaca, isoformas 64kDa (B), 72kDa (C), 75kDa (D) e somatória (E).....	43

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b> 13
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b> 15
<b>2.1</b>	METALOPROTEINASES DA MATRIZ EXTRACELULAR (MMP)..... 18
<b>2.2</b>	PLANTAS MEDICINAIS..... 20
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA.....</b> 25
<b>4</b>	<b>HIPÓTESE.....</b> 26
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS.....</b> 27
<b>5.1</b>	OBJETIVO GERAL..... 27
<b>5.2</b>	OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 27
<b>6</b>	<b>METODOLOGIA.....</b> 28
<b>6.1</b>	CONSIDERAÇÕES GERAIS..... 28
<b>6.2</b>	OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE <i>U. guianensis</i> ..... 28
<b>6.3</b>	IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS..... 29
<b>6.3.1</b>	ANÁLISE DE CANFERITRINA NO EXTRATO AQUOSO DE <i>U. guianensis</i> POR UPLC-DAD-MS/MS..... 29
<b>6.3.2</b>	ANÁLISE DE ALCALOIDES OXINDÓLICOS NOS EXTRATO AQUOSO DE <i>U. guianensis</i> POR UPLC-DAD-MS..... 30
<b>6.3.3</b>	ANÁLISE DE ÁCIDO QUINICO E ÁCIDO CLOROGÊNICO EM EXTRATO aquoso DE <i>U. guianensis</i> POR UPLC-DAD-MS ..... 31
<b>6.4</b>	INDUÇÃO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL..... 31
<b>6.5</b>	TRATAMENTO..... 32
<b>6.6</b>	AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL ..... 32
<b>6.7</b>	PESO DOS RINS, CORAÇÃO, HIPERTROFIA CARDÍACA ..... 33
<b>6.8</b>	DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MMP-2 POR ZIMOGRAFIA EM GEL..... 33
<b>6.9</b>	ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 34
<b>7</b>	<b>RESULTADOS.....</b> 35

7.1	ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO.....	35
7.2	PRESSÃO ARTERIAL E INTERFERÊNCIA SOBRE O PESO DOS ANIMAIS.....	38
7.3	RELAÇÃO ENTRE OS RINS E ELEVAÇÃO DO PESO DO CORAÇÃO	40
7.4	ZIMOGRAFIA DA AORTA.....	41
7.5	ZIMOGRAFIA DO CORAÇÃO.....	43
8	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>44</b>
9	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>47</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>

## RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um fator risco para doenças cardiovasculares e está relacionada a eventos de morte. Cursa com lesões envolvidas com a ativação de metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs), o que contribui para progressão do remodelamento cardíaco e vascular. Substâncias anti-inflamatórias e antioxidantes mostram potencial terapêutico por inibir a atividade de MMPs em animais hipertensos. A espécie *Uncaria guianensis* também conhecida como “unha de gato” possui atividade anti-inflamatória e antioxidante, o que poderia contribuir para efeitos benéficos na HAS. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do extrato aquoso da *U. guianensis* sobre a hipertensão arterial, remodelamento cardiovascular, e atividade da MMP-2 na aorta e coração de ratos induzidamente hipertensos pela técnica 2K1C. Ratos Wistar hipertensos pelo modelo 2K1C foram tratados com extrato aquoso da planta *U. guianensis* nas doses de 50 e 200 mg/kg/dia, ou placebo, por gavagem, por seis semanas. Outro grupo de animais foi tratado pelo mesmo período com Losartana (10 mg/kg/dia). A pressão arterial foi aferida semanalmente. O coração foi pesado e uma amostra foi direcionada para zimografia em gel contendo gelatina para avaliar a atividade da MMP-2. O mesmo procedimento foi realizado com a aorta. Os rins foram coletados, pesados e descartados, somente para validação da técnica de HAS, pois animais 2K1C devem apresentar peso menor no rim que teve a artéria com o clipe inserido. O extrato aquoso de *U. guianensis* foi caracterizado pela presença dos ácidos quínico e clorogênico, pelos alcaloides mitrafilina e isomitrafilina e pelo flavonoide canferitrina. O extrato de *U. guianensis* não reduziu os valores de pressão dos animais induzidamente hipertensos no modelo 2K1C e reduziu o peso dos animais ao final das 6 semanas de protocolo. O modelo 2K1C para hipertensão arterial foi confirmado tanto pela elevação da pressão arterial dos animais, quanto pela redução no peso dos rins que tiveram a artéria clipada. Com 50 mg/kg do extrato, houve redução da hipertrofia cardíaca dos animais 2K1C tratados. Em relação a presença de MMP-2, no tecido cardíaco, nenhuma das isoformas de MMP-2 foi alterada de forma significativa nos animais hipertensos. O extrato aquoso de *U. guianensis* não reduziu valores de pressão arterial nos animais 2K1C. Porém, na dose de 50 mg/kg, conferiu proteção contra a hipertrofia cardíaca. No tecido aórtico, o extrato aquoso de *U. guianensis*, na dose de 50 mg/kg, reduziu a presença da isoforma da MMP-2 de 72 kDa e a soma de todas as isoformas da MMP-2, o que permite concluir que o extrato mostrou potencial para redução de lesões causadas pela hipertensão, em modelo 2K1C.

**Palavras-chave:** Anti-hipertensivo. Metaloproteinases. Remodelamento cardiovascular. Unha-de-gato.

## SUMMARY

Systemic arterial hypertension (SAH) is a risk factor for cardiovascular diseases and is related to death. It involves lesions involved in the activation of extracellular matrix metalloproteinases (MMPs), which contributes to the progression of cardiac and vascular remodeling. Anti-inflammatory and antioxidant substances show therapeutic potential by inhibiting the activity of MMPs in hypertensive animals. The species *Uncaria guianensis*, also known as “cat's claw”, has anti-inflammatory and antioxidant activity, which could contribute to beneficial effects in hypertension. The objective of this work was to evaluate the effects of the aqueous extract of *U. guianensis* on arterial hypertension, cardiovascular remodeling, and MMP-2 activity in the aorta and heart of inducibly hypertensive rats using the 2K1C technique. Hypertensive Wistar rats using the 2K1C model were treated with an aqueous extract of the *U. guianensis* plant at doses of 50 and 200 mg/kg/day or placebo for six weeks. Another group of animals was treated for the same period with Losartan (10 mg/kg/day). Blood pressure was measured weekly. The heart was weighed and a sample was sent for zymography in a gelatin-containing gel to evaluate MMP-2 activity. The same procedure was performed with the aorta. The kidneys were collected, weighed and discarded, only to validate the SAH technique, as 2K1C animals must have a lower weight in the kidney that had the artery with the clip inserted. The aqueous extract of *U. guianensis* was characterized by the presence of quinic and chlorogenic acids, the alkaloids mitraphylline and isomitraphylline and the flavonoid campiferythrin. The extract of *U. guianensis* did not reduce the pressure values of the induced hypertensive animals in the 2K1C model and reduced the weight of the animals at the end of the 6 weeks of the protocol. The 2K1C model for arterial hypertension was confirmed both by the increase in the animals' blood pressure and by the reduction in the weight of the kidneys that had the artery clipped. With 50 mg/kg of the extract, there was a reduction in cardiac hypertrophy in the treated 2K1C animals. Regarding the presence of MMP-2 in cardiac tissue, none of the MMP-2 isoforms were significantly altered in hypertensive animals. The aqueous extract of *U. guianensis* did not reduce blood pressure values in 2K1C animals. However, at a dose of 50 mg/kg, it provided protection against cardiac hypertrophy. In aortic tissue, the aqueous extract of *U. guianensis*, at a dose of 50 mg/kg, reduced the presence of the 72 kDa MMP-2 isoform and the sum of all MMP-2 isoforms, which allows us to conclude that the extract showed potential for reducing injuries caused by hypertension, in a 2K1C model.

**Keywords:** Antihypertensive. Metalloproteinases. Cardiovascular remodeling. Cat nail.

## 1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial é uma doença caracterizada pela elevação persistente dos valores de pressão arterial sistólico e diastólico que em geral estão acima de 140 mmHg e 90 mmHg respectivamente. É considerada como um dos principais fatores de elevação do risco para acidentes cardiovasculares e está relacionada a eventos de morte por infarto agudo do miocárdio, acidentes vasculares encefálicos e periféricos, e aos agravos das comorbidades que a ela estão relacionadas como diabetes mellitus e insuficiência renal crônica.

É realizado o controle da pressão arterial pelo uso de terapêuticas não farmacológicas, podendo ser citadas as alterações no estilo de vida com ingestão reduzida de sódio, controle do peso corporal, redução de hábitos como o etilismo e tabagismo, prática de atividade física dentre tantos outros. Grande parte do tratamento requer o uso de medicamentos que controlam a pressão arterial e ao mesmo tempo previnem as lesões decorrentes da doença mal tratada, como o remodelamento cardiovascular com estreitamento do lúmen de vasos e perda da atividade contrátil saudável, além da hipertrofia cardíaca com alteração importante da função do coração. Estes fenômenos parecem estar envolvidos com a ativação de enzimas metaloproteinases (MMPs) que degradariam componentes da matriz extracelular tanto da musculatura lisa dos vasos, quanto dos miócitos, favorecendo a hipertrofia, proliferação e migração celular.

O tratamento da hipertensão arterial é um desafio em todo o mundo. Além da dificuldade dos pacientes seguirem continuamente as orientações terapêuticas, não é verdade que, mesmo controlando os valores de pressão arterial de acordo com as metas, o paciente não curse com as lesões de órgão alvo ao longo tratamento. Alguns medicamentos, além de reduzirem estes valores, são também relacionados à redução do agravo destas lesões, porém, não é raro, que tratamentos falhem no meio do caminho e que sejam necessárias intervenções com acréscimo de novas drogas. Isto traz o benefício do sinergismo farmacológico para o efeito terapêutico, porém, aumenta as chances de toxicidade à medida que se expõem os pacientes a novas substâncias.

Algumas nações, fazem uso da medicina tradicional, e neste aspecto incrementam o uso de plantas ou outros produtos de origem natural no tratamento da hipertensão arterial. Os vegetais costumam acumular uma variedade de substâncias, e é comum uma mesma planta apresentar várias atividades biológicas. Assim, a eficácia destas em tratar a

hipertensão e prevenir o aparecimento das lesões naturais do hipertenso já foi demonstrada em alguns estudos. Entre as plantas medicinais utilizadas no tratamento da hipertensão, há uma variedade de gêneros e espécies que mostram atividade hipotensora. Nestas diversas plantas, ainda há uma gama de substâncias classificadas entre os diversos tipos de metabólitos vegetais.

A forma como cada uma destas plantas ou substâncias isoladas atua na redução da pressão sanguínea também é diversificada, indo desde a inibição da enzima conversora de angiotensina, bloqueio dos canais de cálcio voltagem dependente, até a atividade antioxidante. Isto é um estímulo pela busca de um anti-hipertensivo com origem vegetal, já que os mecanismos pelos quais as plantas reduzem a pressão arterial não seguem um padrão relacionado nem ao tipo da planta nem a classificação química dos compostos. Apesar desta variabilidade, vale a pena observar o que já está descrito na literatura, para nortear uma busca por novas substâncias anti-hipertensivas de origem vegetal de forma racional. Neste ponto, a planta *U. guianensis* surge como mais uma destas com potencial a ser explorado racionalmente, pois já tem uso tradicional, o que em termos regulatórios facilita seu uso como medicamento, e também pelo seu envolvimento na fisiopatologia da hipertensão arterial com sua atividade anti-inflamatória, e talvez, com algum mecanismo próprio como as plantas do mesmo gênero *Uncaria*, a exemplo da espécie *U. rhynchophylla* que é capaz de interferir no uso do cálcio no relaxamento vascular, e da planta *U. sinensis* que inibe a atividade gelatinase de metaloproteinases.

Assim, este trabalho tem como um dos principais objetivos avaliar o uso de extrato da planta *U. guianensis* no tratamento da hipertensão arterial, bem como sua interferência nos remodelamentos cardíaco e vascular (via MMP tipo 2).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial. Em humanos é caracterizada por elevação sustentada dos níveis pressóricos sistólicos e diastólicos maiores ou iguais a 140 e 90 mmHg, respectivamente. Representa um dos fatores de risco cardiovasculares mais importantes estando associada a eventos de morte súbita, acidentes tromboembólicos encefálicos e cardíacos, insuficiência cardíaca, doença renal crônica e doença arterial (JNCV, 1993; SBH, 2010) Portanto, o aumento de tensão na parede dos vasos e coração que ocorre na HAS promove alterações nas células e na matriz extracelular, o que resulta em intenso remodelamento cardiovascular e alteram a hemodinâmica de forma substancial promovendo lesões em órgãos como cérebro, rins, retina, vasos e coração (Praxedes *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2004).

A causa da hipertensão arterial sistêmica é multifatorial. E os fatores de risco para desenvolver a doença podem ser divididos em modificáveis, como dieta com alto teor de sódio, gorduras saturadas ou trans, e baixa ingestão de frutas ou vegetais, sedentarismo, consumo de álcool e tabagismo. Entre os considerados não modificáveis estão histórico familiar, idade superior aos 65 anos de idade e a coexistência de doenças renais ou diabetes (SBH, 2010).

No Brasil, de acordo com dados revisados no Datasus, em 2017 45% das mortes por eventos cardiovasculares foram relacionadas à hipertensão arterial, o que representa um número maior que 161.000 óbitos (BRASIL, 2017). Dados globais mostraram que 10,4 milhões de mortes tiveram como principal fator de risco a elevação da pressão arterial. Em 2010, a prevalência global da HA foi de 31%. No Brasil, em 2013, o percentual de adultos ultrapassou 32%, com prevalência maior entre homens (Malta, 2018). Até 2015, o número estimado de adultos com HA era de 1,13 bilhões (Mills, 2016; NCD-RisC, 2017).

A fisiopatologia da hipertensão arterial envolve alterações nos mecanismos naturais de controle. As relações entre débito cardíaco e resistência periférica podem ser alteradas tanto por sistemas neurais com respostas rápidas, como por atividades endócrinas com adaptações mais tardias. O sistema renina-angiotensina exerce papel fundamental no curso da HAS, sendo a angiotensina II relacionada como uma das principais substâncias nas lesões de órgãos alvos, tanto pela sua notória propriedade vasoconstritora, quanto nas respostas proliferativas e inflamatórias. Sabe-se que ela é capaz de elevar a expressão de moléculas de adesão, induzir a liberação de citocinas como a TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL6

(Tedgui; Mallat, 2005), e a liberação destes fatores inflamatórios pode ocorrer mesmo com a infusão de doses não hipertensoras em camundongos, demonstrando independência entre os processos (Lima *et al.*, 2019). Ela ainda estimula a produção e liberação da aldosterona, um mineralocorticoide envolvido na retenção de sódio e líquido e que também tem participação nos processos proliferativos contribuindo para o remodelamento.

Dentre as alterações vasculares associadas à HAS, se observa disfunção endotelial, hipertrofia e hiperplasia das células do músculo liso vascular, proliferação, migração e apoptose celular, além de deposição de componentes da matriz extracelular (Intengan; Schiffrin, 2001). Em conjunto, essas alterações resultam em intenso remodelamento vascular, que na HAS consiste em uma resposta adaptativa às mudanças no estresse induzido pelo aumento da pressão arterial sobre a parede dos vasos.

O remodelamento vascular é iniciado por uma adaptação à elevação da pressão sanguínea sobre as paredes para reestabelecer um novo estado benéfico hemodinâmico, no entanto, o curso destas adaptações leva a modificações da matriz extracelular (MEC) com alterações morfológicas e funcionais do tecido muscular liso dos vasos. Nas artérias de resistência, em estágios moderados da hipertensão, ocorre o remodelamento eutrófico, que consiste na diminuição do lúmen sem elevação do diâmetro vascular, não havendo hipertrofia.

Quando a hipertensão é persistente e avança para estágios mais severos, a adaptação eutrófica é substituída pelo remodelamento hipertrófico, ocorrendo principalmente nas artérias de grande calibre, evoluindo com elevação da espessura da parede arterial e do diâmetro vascular, com redução do lúmen. Este fenômeno tem sido associado a alterações na distribuição e no metabolismo de colágeno e elastina na matriz da parede vascular arterial que contribui para a rigidez arterial (Martin *et al.*, 2004; Rizzi *et al.*, 2009; Schieber; Chandel, 2014; Siti; Kamsiah; Kamsiah, 2015; Altara *et al.*, 2016). Proteases têm sido relacionadas com a fisiopatologia da hipertensão e as metaloproteinases da matriz extracelular figuram como elementos chaves no remodelamento cardiovascular (Ruddy *et al.*, 2009; Rajzer *et al.*, 2017).

No remodelamento cardíaco a hipertrofia dos cardiomiócitos aparece como a primeira resposta cardíaca para aliviar o estresse sob a parede do ventrículo esquerdo imposta pela hipertensão. Este crescimento é modulado por uma refinada rede de comunicação entre a matrix extracelular, o citoesqueleto, o sarcômero, as proteínas de manejo do cálcio e o núcleo. A HAS ativa mecanismos humorais locais e também fatores

de crescimento e citocinas secretadas pelos fibroblastos e células vasculares e sanguíneas, que por meio de receptores de membranas dos miócitos poderiam desenvolver papel importante na ativação da expressão gênica e promoção da hipertrofia. O remodelamento cardíaco ainda é influenciado pela inflamação e ativação da imunidade que são considerados atores centrais nos processos de lesões de órgãos alvos induzidas pela HAS. A elevação da permeabilidade da parede dos capilares, indução de quimiocinas e citocinas, e infiltração de células inflamatórias no miocárdio somados às alterações da MEC são cruciais na diferenciação dos fibroblastos residentes em miofibroblastos ativados. Além disso, a inflamação sistêmica ainda induz estresse oxidativo, com formação de espécies reativas de oxigênio (ERO), no endotélio microvascular coronário resultando em redução na disponibilidade de óxido nítrico (NO) no miocárdio. Por outro lado, as alterações do colágeno em resposta à HAS contribuem com a fibrose no remodelamento cardíaco. Há grande variedade de mudanças no metabolismo desta proteína e dentre elas estão os comportamentos atípicos de proteinases específicas que elevam a conversão de pró-colágenos em colágeno, e também a degradação ou diminuição das fibras saudáveis em decorrência da ação de metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs) que seriam ativadas pelas EROs (McMaster *et al.*, 2015; Altara *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2019)

A formação destas espécies reativas de oxigênio ocorre de forma ampla nos organismos, principalmente no processo inflamatório. Normalmente tem início com uma injúria tecidual ou com a presença de um patógeno que desencadeiam uma série de sinais imunológicos que dão sequência, sustentam e reativam a resposta inflamatória. Algumas citocinas pró inflamatórias são produzidas por células dendríticas ativadas como a IL-1, IL-6 e TNF, e possuem atividade vasodilatadora capaz de elevar o fluxo, ao mesmo tempo em que induzem a migração celular. A IL-1 estimula a proliferação de macrófagos e linfócitos. A IL-6 estimula a produção das proteínas de fase aguda produzidas pelo fígado e o TNF ativa neutrófilos, células endoteliais, linfócitos e proteínas da fase aguda (Chapel *et al.*, 2013). Em culturas de aorta de ratos, a IL-1 $\beta$  participou da transcrição da MMP-2 (Lemarié; Tharaux; Lehoux, 2010).

A inflamação é interrompida quando ocorre reparo dos tecidos lesionados ou quando há destruição do patógeno, porém, há processos inflamatórios que podem se sustentar de forma crônica, por exemplo, na agressão vascular ocorrida com a elevação da pressão sanguínea, com a produção persistente de espécies reativas de oxigênio. Uma gama de ERO é produzida por diferentes células envolvidas no processo inflamatório, e

contribuem para antagonizar o quadro de injúria tecidual e também no combate aos patógenos. Nestas condições de desequilíbrio entre elevada produção e menor degradação de ERO, aparece o estresse oxidativo que pode causar disfunção endotelial, contribuir com o remodelamento cardiovascular (Thaha; Tanuseputra; Tomino, 2010) e também com diversas consequências amplamente conhecidas no sistema cardiovascular, podendo ser elencadas a hipertrofia do músculo liso de vasos sanguíneos, aumento na deposição de proteínas da matriz extracelular (via ativação das MMPs, inflamação, migração de monócitos, disfunção endotelial e apoptose). Conseqüentemente, tais mudanças, podem favorecer para a progressão de diversas patologias como a diabetes, HAS e aterosclerose (Schieber; Chandel, 2014; Siti; Kamisah; Kamsiah, 2015). As ERO podem ativar fatores de transcrição nuclear derivado de eritrócito-like2 (NFE2L2), fator nuclear Kappa-B (NF- $\kappa$ B) e a proteína ativadora 1 (AP-1). Estes fatores modulam a expressão gênica e o NF $\kappa$ B está relacionado com a elevação da transcrição da MMP-2 (Harrison *et al.*, 2011).

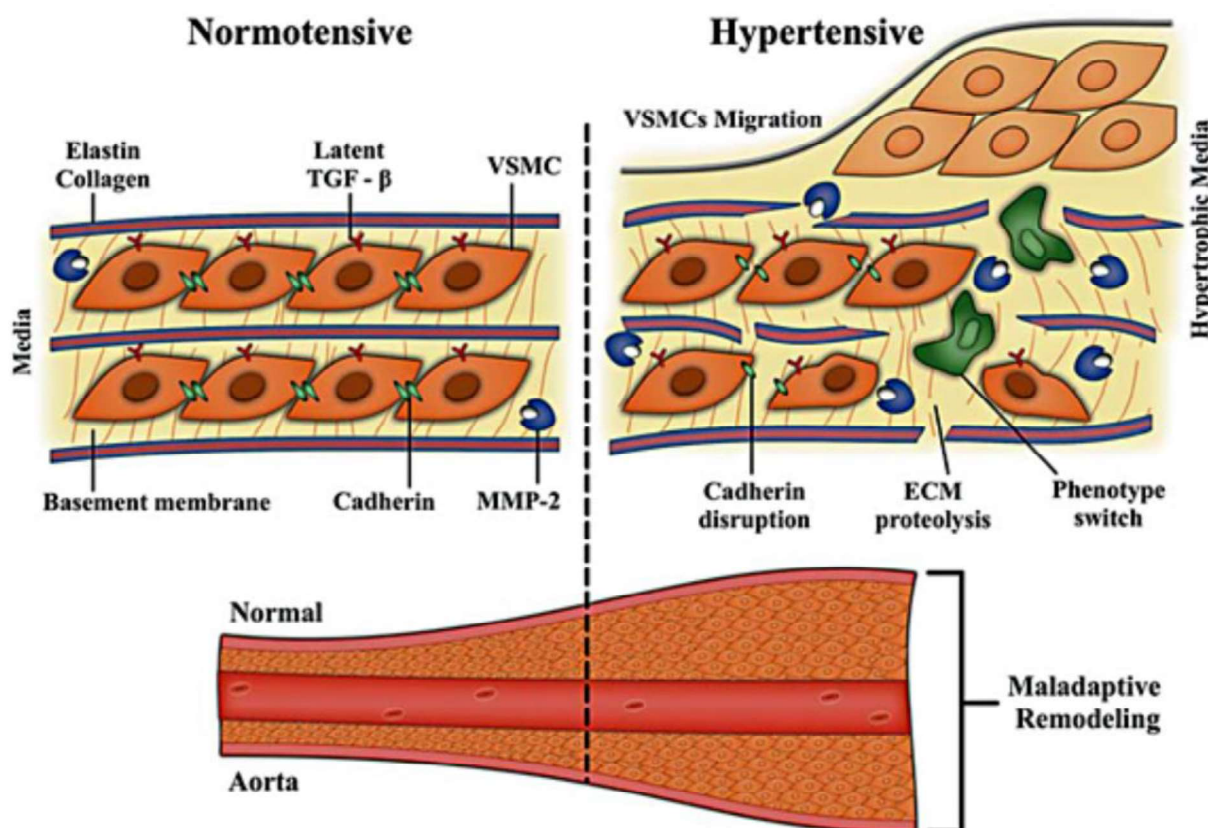
Assim, o processo inflamatório (IL1 $\beta$ ), a formação de ERO (NF- $\kappa$ B, a ativação da MMP-2) e a hipertensão (angiotensina II, complacência arterial) coparticipam entre si para sustentar o seu curso, e todos, de forma isolada ou associada, contribuem para a ativação e elevação da síntese das MMP-2 e conseqüentemente para o remodelamento cardíaco e vascular.

## 2.1 METALOPROTEINASES DA MATRIZ EXTRACELULAR (MMP)

Metaloproteinases da matriz extracelular (MMPs) são um grupo de endopeptidases cálcio-dependentes, contendo zinco, que desempenham um importante papel no remodelamento cardiovascular, degradando vários produtos da MEC, presente em muitas doenças cardiovasculares, incluindo a HAS. O aumento da atividade de MMP em pacientes hipertensos está diretamente relacionado à rigidez da parede vascular arterial, e também tem envolvimento no remodelamento cardíaco, sendo revertidos pela terapia farmacológica anti-hipertensiva (Rajzer *et al.*, 2017). As MMPs são classificadas em 28 tipos, e são diferenciadas pela estrutura molecular em colagenases, gelatinases, estromelisinases, matrilisinas e MMP de tipo membrana. Dentre as MMPs, a gelatinase MMP-2 (gelatinase A) é amplamente descrita por sua participação nas alterações morfofuncionais (Figura 1)

presentes na HAS (Galis; Khatri, 2002; Chow; Cena; Shultz, 2007; Castro *et al.*, 2008, 2009; Rizzi *et al.*, 2009, 2013; Chen *et al.*, 2013; Cau *et al.*, 2015).

Figura 1 – Alterações morfológicas induzidas pela atividade da MMP-2

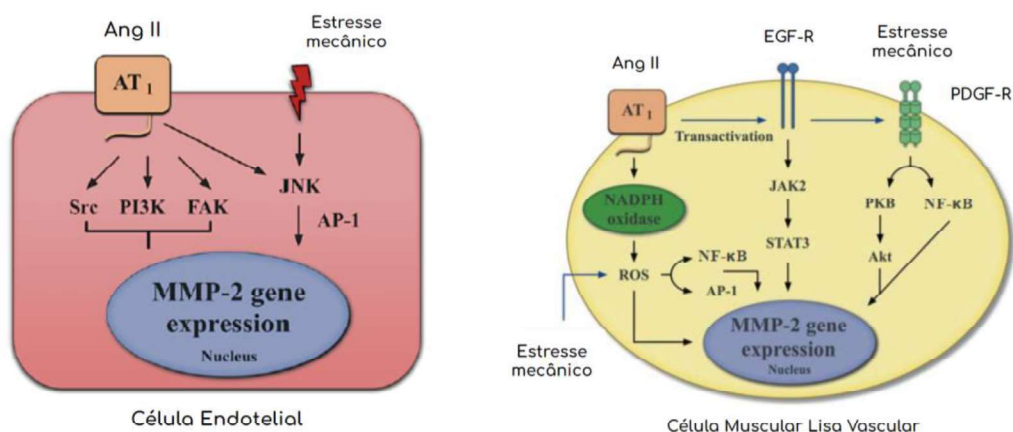


Fonte: Belo, 2015

A atividade das MMPs, especialmente a MMP-2, pode ser controlada por mecanismos de regulação da expressão gênica, mas também por mecanismos pós-traducionais (Figura 2) como, por exemplo, ativação por espécies reativas de oxigênio (ERO). O estresse oxidativo causado pela elevação destas espécies é considerado um importante fator patogênico em doenças cardiovasculares (Nakmareong *et al.*, 2011; Datla; Griedling, 2010) e é o principal fator ativador das MMP, especialmente MMP-2 durante a fisiopatologia da HAS (Jacob-Ferreira; Shultz, 2013; Rizzi *et al.*, 2013).

Diversos estudos mostram que drogas antioxidantes reduzem o estresse oxidativo gerado pela HAS e diminuem a atividade das MMPs, atenuando conseqüentemente o remodelamento cardiovascular (Lin *et al.*, 2016; Ceron *et al.*, 2010).

Figura 2 – Regulação da transcrição e da atividade da MMP-2 na HA.



Fonte: Adaptado de Belo, 2015

Sob a ótica de que o estresse oxidativo, a resposta imunológica, o processo inflamatório e a complacência arterial, juntos, formam uma rede de contribuições no remodelamento cardiovascular na HAS e que, poderiam estar relacionados à ativação das MMP-2, o uso de plantas medicinais com propriedades antagônicas aos processos envolvidos poderia ter relações benéficas associadas com a inibição destas proteases.

## 2.2 PLANTAS MEDICINAIS

Há evidências com mais de 5000 aC de que plantas têm sido utilizadas em preparos com fins medicinais. Na placa de argila suméria de Nagpur, 12 receitas de medicamentos relacionam até 250 plantas diferentes (Kelly, 2009). Hipócrates (459-370 aC) em sua obra classifica 300 plantas por ação fisiológica, e algumas delas já apresentavam utilidade para o tratamento de doenças cardiovasculares, como os diuréticos, e cita a cebola marítima, o aipo, a salsa, o aspargo e o alho (Bojadzievsk, 1992). Por volta de 77 dC, Dioscorides descreveu *Scillae bulbis* como expectorante e estimulante cardíaco (Tucakov, 1990). Com o passar dos séculos, o estudo das plantas acompanhou os avanços da humanidade, e novas formas de identificação das plantas e das substâncias contribuíram para os seus usos.

Atualmente, o uso de plantas medicinais ao redor do mundo é vasto, com grande quantidade de estudos sobre a eficácia e importância gerando um volume de informações que acabou dando origem a publicações pela Organização Mundial de Saúde de monografias sobre plantas medicinais (Gurib-Fakim, 2006; Coghlan *et al.*, 2012; Mankga *et al.*, 2013). Estas publicações apresentam uma lista de espécies espalhadas pelo planeta reconhecidamente eficazes e suas formas adequadas de uso.

No Brasil, é tradicional o uso de plantas medicinais. O Ministério da Saúde, por meio do sistema de saúde público vigente no país, o Sistema Único de Saúde (SUS) publicou em 2009 uma Relação Nacional de Plantas de Interesse do SUS (RENISUS), nela estão 71 espécies de plantas com alguma eficácia garantida e uso tradicional para o tratamento de algumas enfermidades, dentre elas a hipertensão arterial, e quando a lista foi criada ainda faltavam definir todas as indicações de uso. Em 2012, medicamentos fitoterápicos foram incluídos na Relação Nacional de Medicamentos (RENAME) e uma das plantas incluídas nesta lista é a *Uncaria tomentosa*. Naturalmente, é possível encontrar estudos de revisão sistemática sobre o uso de plantas encontradas no território brasileiro que possuem atividade contra vírus (Gandhi *et al.*, 2016), nas infecções do trato urinário (Vogel *et al.*, 2011), no autismo (Cunha *et al.*, 2018), na artrite reumatoide (Moura *et al.*, 2017), em doenças cardiovasculares e renais (Tirloni *et al.*, 2017). Apesar de tantos trabalhos, a legislação contribui para a transformação destas plantas em medicamentos fitoterápicos, porém, sendo a maior parte destes produtos no Brasil produzidos com plantas de outros países (Costa, 2018).

Apesar dos esforços mundiais, o desenvolvimento de novos medicamentos parece estar aquém da demanda, e para algumas indicações terapêuticas encontra-se realmente estagnado (Newman; Crag, 2020). Então, o olhar para as fontes naturais de substâncias com interesse terapêutico pode trazer novas perspectivas para o tratamento das doenças que continuam a se expandir pelo globo, em especial nos distúrbios cardiovasculares. Os tratamentos não acompanham a evolução das doenças e pode ocorrer o que é observado pela Sociedade Brasileira de Cardiologia, quando afirma que, a redução da mortalidade por doenças cardiovasculares atingiu um patamar nos últimos anos no Brasil com importante variação regional, sugerindo a necessidade de renovar as estratégias de combate dessas doenças (Diretrizes, 2019). Assim, plantas com atividade biológica sobre o sistema cardiovascular, podem contribuir com o tratamento dos distúrbios cardiovasculares, ampliando o arsenal terapêutico.

As plantas têm sido utilizadas na área da cardiologia auxiliando no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva, na hipertensão arterial, angina de peito, aterosclerose, arritmia e insuficiência venosa (Mashour, Lin, Frishman *et al.*, 1998). Algumas espécies são utilizadas como hipotensores, como *Ocimum sanctum* (Chaudhury *et al.*, 2014), *Panax notoginseng* é utilizada na aterogênese (Chan; Thomas; Tomlinson, 2002), *Viscum album* possui atividade antihipertensiva (EUROPEAN MEDICINES AGENCY, 2012), *Leonurus*

*cardiac* é um fortificante da musculatura cardíaca e estes são apenas alguns exemplos da grande variedade de gêneros e espécies de plantas utilizados em afecções cardiovasculares.

Inúmeras espécies vegetais podem ser úteis no tratamento da hipertensão arterial por serem capazes de reduzir valores da pressão arterial sistólica e diastólica. Plantas conhecidas pela população como o alho (*Allium sativum*), o salsão (*Apium graveolens*), coentro (*Coriandrum sativum*), açafrão (*Crocus sativus*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), e outras não tão conhecidas assim, como *Acorus calamus*, *Agelanthus dodoneifolius*, *Apocynum venetum*, *Arctium Lappa*, *Carthamus tinctorius* e *Cirsium japonicum*, estão relacionadas às suas atividades hipotensoras (Al Disi; Anwar; Eid, 2016, Anwar; Al Disi; Eid, 2016)

No Brasil, e em diversas partes do mundo, as plantas do gênero *Uncaria* têm sido utilizadas com diversas indicações terapêuticas, além de apresentarem atividades diversas com potencial terapêutico, dentre elas podem ser citados o uso como anti-hipertensivo e anti-inflamatório, além de exibirem atividade antioxidante importante. No Brasil, a planta é conhecida popularmente como “Unha de gato”, sendo utilizada com fins anti-inflamatórios, no entanto, foram demonstrados experimentalmente também potenciais efeito antioxidante e imunomodulador (Sandoval *et al.*, 2002). Entretanto, existe uma lacuna na literatura para o uso das duas principais espécies que ocorrem na América do Sul, *U. tomentosa* e *U. guianensis*, quando se trata dos potenciais efeitos anti-hipertensivos.

Popularmente, essas duas espécies são conhecidas como unha de gato espécie e normalmente referenciadas pelas comunidades tradicionais como se fossem a mesma planta (Lock *et al.*, 2016). Várias enfermidades tem sido tratadas com estas espécies a exemplo do Lupus sistêmico, síndrome da fadiga crônica, osteoartrite e bursites (Lima *et al.*, 2019). A casca da unha de gato contém alcaloides oxindólicos e polifenóis (flavonoides, proantocianidinas e taninos), ácido glicosídico, alcaloides pentacíclicos, esteróis, entre outros metabólitos secundários (Sandoval *et al.*, 2000; Aguilar *et al.*, 2002).

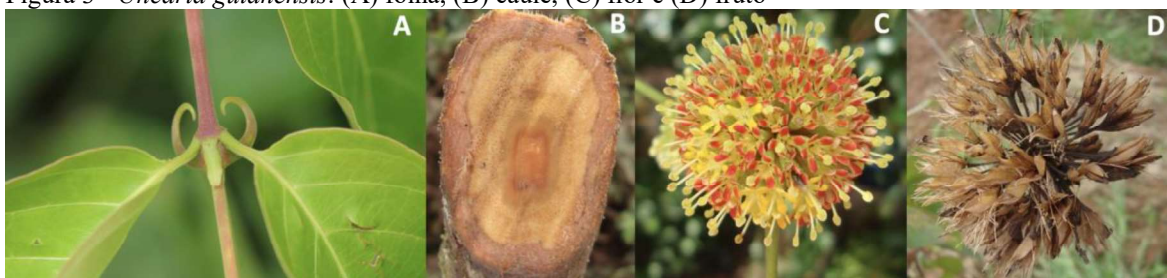
Mais de 200 compostos já foram identificados nos extratos das cascas do caule e da raiz, e das folhas de plantas do gênero *Uncaria*, incluindo alcaloides, triterpenos, flavonoides, fenilpropanoides, dentre outras classes e compostos (Zhang *et al.*, 2015). Estudos indicam que compostos fenólicos e triterpenoides são constituintes importantes relacionados à atividade antioxidante, especialmente as protocianidinas, quercetina, ácidos

ursólicos e oleanólicos (Gonçalves, Dinis, Batista, 2005; Falkiewicz; Lukasiak, 2001; Amaral *et al.*, 2009; Bors *et al.*, 1990).

Os compostos corinoxeina e isorhynchophyllina, extraídos de *Uncaria rhynchophylla*, mostraram efeito inibitório sobre a proliferação de células musculares lisas de vasos, com a hipótese de que seus efeitos estariam relacionados ao bloqueio da sinalização extracelular do ciclo celular regulada por fosforilação via cinase de G0/G1 (Kim *et al.*, 2008; Guo *et al.*, 2014).

A espécie *U. guianensis* (Figura 3) produz, nas folhas, o flavonoide glicosilado canferitrina que é considerado um marcador químico da espécie (Valente *et al.*, 2009; Mello *et al.*, 2017). Além disso, esta substância apresenta efeito vasodilatador (Cechinel-Zanchett *et al.*, 2019), o que pode conferir à planta atividade no sistema circulatório.

Figura 3 - *Uncaria guianensis*: (A) folha, (B) caule, (C) flor e (D) fruto



Fonte: elaborado pelo autor

Várias atividades farmacológicas têm sido atribuídas a *U. guianensis*. Em um ensaio clínico com portadores de artrite reumatoide submetidos a tratamento com 100 mg por via oral de extrato aquoso da *U. guianensis* (n=30) e placebo (n=15) foi demonstrado que após duas semanas de tratamento os pacientes tratados apresentaram melhora nos seus quadros (Piscoya *et al.*, 2001).

Foram pesquisados indícios de eficácia em plantas tradicionalmente utilizadas pela população brasileira para o tratamento de artrite reumatoide em metanálise onde foram incluídas as 13 plantas que constam na lista da RENISUS e mais 3 plantas que também são comercializadas e utilizadas no Brasil. Os achados de eficácia da metanálise não foram significativos para a espécie *U. tomentosa*, no entanto, foram favoráveis para *C. longa* ou *C. domestica*, *U. guianensis* e *Z. Officinale*. Nesta metanálise, *U. guianensis* apresentou alguma eficácia comprovada para o tratamento da artrite reumatoide (Moura *et al.*, 2017).

Outras espécies de plantas do gênero *Uncaria* foram estudadas em outros continentes. Algumas substâncias encontradas em extratos destas outras espécies já

demonstraram efeito anti-hipertensivo, como os 2-Ácido metilsuccínico, 2-ácido metilglutárico, ácido subérico, mioinositol, 4-ácido pirodócio, ácido dodecanedióico, inosinas, isorinchofilina e rinchofinlina. As espécies *U. hirsuta*, *U. macrophylla*, *U. rhynchophylla*, *U. sessilifructus* e *U. sinensis* foram empregadas no tratamento da hipertensão, demonstrando eficácia e segurança, com a característica de atuar em múltiplos alvos, nas múltiplas vias funcionais apresentando poucos efeitos adversos (Zhou, J; Zhou S, 2012; Feng et al., 2019).

A espécie *U. guianensis* apresenta diversos potenciais terapêuticos, porém, o possível efeito anti-hipertensivo ainda não foi avaliado. Neste trabalho, esperamos contribuir para responder se extrato aquoso de folhas de *U. guianensis* altera os valores de pressão arterial, se interfere com o curso do remodelamento cardiovascular na hipertensão, e se a MMP-2 tem sua atividade alterada após o tratamento com o fitoterápico.

### 3 JUSTIFICATIVA

As plantas do gênero *Uncaria* têm sido utilizadas por populações tradicionais devido a atividade anti-inflamatória, antioxidante e anti-hipertensiva. O efeito anti-hipertensivo da espécie *U. guianensis* não foi avaliado, e uma possível confirmação desta atividade pode ampliar o arsenal terapêutico contra a hipertensão e suas comorbidades.

#### **4 HIPÓTESE**

O extrato de *U. guianensis* atua reduzindo a atividade das metaloproteinases e atenua os remodelamentos cardíaco e aórtico, provocados pela hipertensão arterial.

## 5 OBJETIVOS

### 5.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do extrato aquoso das folhas padronizado de *U. guianensis* sobre a hipertensão arterial, alteração cardíaca e atividade da metaloproteinase da matriz extracelular (MMP)-2 na aorta e coração de ratos induzidamente hipertensos pela técnica 2-rins e 1-clipe (2K1C).

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a hipertensão arterial e alteração cardíaca em ratos hipertensos tratados com extrato aquoso das folhas de *U. guianensis* nas doses de 50 e 200 mg/Kg/dia;

Verificar a atividade da metaloproteinase da matriz extracelular (MMP)-2 na aorta e coração de ratos hipertensos tratados com extrato aquoso das folhas de *U. guianensis* nas doses de 50 e 200 mg/Kg/dia;

Determinar perfil químico por CLUE-EM do extrato aquoso das folhas de *U. guianensis* utilizado nos experimentos com os animais.

## 6 METODOLOGIA

### 6.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os experimentos com animais foram aprovados pelo Comitê Institucional de Cuidado e Uso de Animais da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP, CEUA n° 01/2020).

Foram utilizados 120 ratos machos Wistar (180 a 200 gramas), provenientes do Biotério fornecidos pelo Anilab Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda-Laboratórios Veterinários (Paulínia, SP) e mantidos no Laboratório Experimental Animal da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP). Os animais foram mantidos em salas com ciclos claro/escuro de 12 horas, com temperatura controlada (22-25 °C), e livre acesso a ração e água.

As análises teciduais foram realizadas no laboratório de Biologia Molecular da Unidade de Biotecnologia da UNAERP.

### 6.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE *Uncaria guianensis*

A espécie *U. guianensis* utilizada neste estudo foi coletada no Horto medicinal da UNAERP, depositado no herbário da UNAERP com o código de identificação HPMU 2844. A identificação botânica foi realizada pelo Dr. Piero G. Delprete do Herbar de Guyane, Institut de Recherche pour le Développement, Cayenne, Guiana Francesa. O projeto tem autorização do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) com o número de protocolo A0117CB.

Folhas frescas de *U. guianensis*, cultivado há 8 anos na Coleção de Plantas Medicinais da UNAERP, foram colhidas no horário da manhã. Essas folhas foram secas em estufa de ar circulante (MARCONI) a 45 °C, por 48 horas. Após secagem o material vegetal foi pulverizado em moinho de facas (MARCONI).

A droga vegetal pulverizada colocada em ponto de ebulição e a fonte de calor foi desligada. O material vegetal permaneceu por 15 minutos. em contato com a água quente. A proporção droga vegetal/água foi 1:10. Posteriormente, o material foi filtrado, o extrato aquoso foi congelado e liofilizado para a obtenção do extrato seco. A relação droga extrato (RDE) foi de 3:1.

### 6.3 IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

Identificação dos constituintes químicos presentes no extrato aquoso de folha de *U. guianensis* foi realizada por cromatografia líquida de ultra performance acoplada a espectrometria de massa (CLUE-EM). Estas análises foram realizadas em colaboração com o Dr. Eduardo José Crevelin, no Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

#### 6.3.1 ANÁLISE DE CANFERITRINA NO EXTRATO AQUOSO DE *U. guianensis* POR CLUE-EM/EM

O extrato bruto (1,0 mg) de *U. guianensis* foi solubilizado em 1,0 mL de metanol (grau HPLC) obtendo-se uma concentração de 1,0 mg/mL. A solução estoque foi diluída para obter uma concentração final de 50 µg/mL, e posteriormente, analisada em um sistema ACQUITY UPLC *H-Class* (Waters Corporation) de cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC) acoplado aos detectores de arranjo de diodos (DAD, *do inglês*, Diode Array Detector) e ao espectrômetro de massas Xevo TQ-D tandem quadrupole (Waters Corporation, Milford, MA) operando com uma fonte de ionização Z-spray em modo positivo de análise. Um volume de 5 µL de amostra foi injetada em uma coluna Ascentis® Express C<sub>18</sub> (100 x 4,6 mm, 2,7 µm o diâmetro da partícula) da Supelco. A fase móvel consistiu de 0.1% de Ácido Fórmico (solvente A) e Metanol + 0.1% de Ácido Fórmico (solvente B). A separação dos compostos iniciou com 10% de B, permanecendo nesta condição por 1 min. Em seguida, aumentou para 60% de B entre 1 e 10 min, seguido por 60 % a 90% B entre 10 e 15 min. Logo, retornou à condição inicial (10% B) dentro dos 5 minutos seguintes. O tempo total de análise foi de 21 min a um fluxo de 400 µL/min. Os compostos foram monitorados no DAD na faixa de 220 a 600 nm. Os parâmetros de operação utilizados na fonte de Z-spray foram: voltagem do capilar = 3,5 kV, voltagem do cone = 30 V, temperatura da fonte = 150 °C, fluxo do gás de dessolvatação = 800 L/h, temperatura do gás de dessolvatação = 300 °C. A faixa de massas usada no modo de análise *Full-scan* foi de 100 a 800 Da.

Experimento por CLUE-EM/EM a partir da solução do extrato bruto de *U. guianensis* foi realizado por Dissociação Ativada por Colisão (CAD), utilizando argônio

(Ar) como gás de colisão, com energias de colisão variando de 10-50 eV. O pico no cromatograma TIC (Corrente Iônica Total, do inglês *Total Ion Current*) com tempo de retenção de  $T_R = 11,7$  min mostrou um pico no espectro de massas referente ao íon precursor de  $m/z$  579. Esse íon precursor foi submetido ao experimento por CLUE-EM/EM.

### 6.3.2 ANALISE DE ALCALOIDES OXINDÓLICOS NOS EXTRATO AQUOSO DE *U. guianensis* POR CLUE-EM/EM

O extrato bruto (1,0 mg) de *U. guianensis* e os padrões autênticos dos alcaloides mitrafilina e isomitrafilina (Sigma Aldrich) foram solubilizados em 1,0 mL de metanol (grau HPLC) obtendo-se uma concentração de 1,0 mg/mL. A solução estoque do extrato bruto e dos padrões foi diluída a fim de obter uma concentração final de 50 µg/mL, e posteriormente, analisada em um sistema ACQUITY UPLC *H-Class* (Waters Corporation) de cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC) acoplado aos detectores de arranjo de diodos (DAD, do inglês, Diode Array Detector) e ao espectrômetro de massas Xevo TQ-D tandem quadrupole (Waters Corporation, Milford, MA) operando com uma fonte de ionização Z-spray em modo positivo de análise. Um volume de 5 µL de amostra foi injetada em uma coluna Zorbax Eclipse XDB - coluna C18 (150 x 4,6 mm I.D.; 3,5 µm de tamanho de partícula) de Agilent. A fase móvel consistiu de 0.2% de acetato de amônio (solvente A) e acetonitrila (solvente B). A separação dos compostos iniciou com 35% de B, permanecendo nesta condição por 5 min. Em seguida, aumentou para 50% de B entre 5 e 10 min, permanecendo nesta condição entre 10 e 15 min. Logo, retornou à condição inicial (35% B) dentro dos 5 minutos seguintes. O tempo total de análise foi de 21 min a uma taxa de fluxo de 600 µL/min. Os compostos foram monitorados no DAD na faixa de 220 a 600 nm. Os parâmetros de operação utilizados na fonte de Z-spray foram: voltagem do capilar = 3,5 kV, voltagem do cone = 30 V, temperatura da fonte = 150°C, fluxo do gás de dessolvatação = 800 L/h, temperatura do gás de dessolvatação = 300 °C. A faixa de massas usada no modo de análise *Full-scan* foi de 100 a 800 Da.

### 6.3.3 ANÁLISE DE ÁCIDO QUÍNICO E ÁCIDO CLOROGÊNICO EM EXTRATO AQUOSO DE *U. guianensis* POR CLUE-EM/EM

O extrato bruto (1,0 mg) de *U. guianensis* e o padrão autêntico de ácido quínico e ácido clorogênico (Sigma Aldrich) foram dissolvidos em 1,0 mL de metanol (grau CLUE) para obter uma concentração de 1,0 mg/mL. A solução estoque do extrato bruto e dos padrões foi diluída a fim de obter uma concentração final de 50 µg/mL, e posteriormente, analisada em um sistema ACQUITY UPLC *H-Class* (Waters Corporation) de cromatografia líquida de ultra-performance (UPLC) acoplado aos detectores de arranjo de diodos (DAD, *do inglês*, Diode Array Detector) e ao espectrômetro de massas Xevo TQ-D tandem quadrupole (Waters Corporation, Milford, MA) operando com uma fonte de ionização Z-spray em modo positivo de análise. Um volume de 5 µL de amostra foi injetada em uma coluna Ascentis® Express C<sub>18</sub> (100 x 4,6 mm, 2,7 µm o diâmetro da partícula) da Supelco. A fase móvel consistiu de 0.1% de Ácido Fórmico (solvente A) e Metanol + 0.1% de Ácido Fórmico (solvente B). A separação dos compostos iniciou com 3% de B, permanecendo nesta condição por 1 min. Em seguida, aumentou para 60% de B entre 1 e 15 min, seguido por 60 % a 90% B entre 15 e 19 min. Logo, retornou à condição inicial (3% B) dentro dos 5 minutos seguintes. O tempo total de análise foi de 24 min a uma taxa de fluxo de 300 µL/min. Os compostos foram monitorados no DAD na faixa de 220 a 600 nm. Os parâmetros de operação utilizados na fonte de Z-spray foram: voltagem do capilar = 3,5 kV, voltagem do cone = 30 V, temperatura da fonte = 150 °C, fluxo do gás de dessolvatação = 800 L/h, temperatura do gás de dessolvatação = 300 °C. A faixa de massas usada no modo de análise *Full-scan* foi de 100 a 800 Da.

### 6.4 INDUÇÃO DA HIPERTENSÃO ARTERIAL

Para a indução da hipertensão arterial foi utilizado o modelo de Godblatt, dois rins e 1 clipe (2K1C), que consiste na implantação de um clipe de prata com abertura de 0,2 mm sobre a artéria renal esquerda, levando à estenose da artéria. Esse procedimento leva a ativação do sistema renina angiotensina, com consequente aumento da pressão arterial. Os animais foram anestesiados com Ketamina (0,2 mL) e Xilasina (0,1 mL) para realização da laparotomia e exposição do pedículo da artéria renal, onde foi implantado o clipe de prata. Os animais controle operados (sham) foram submetidos apenas a laparotomia. Ao final do

procedimento receberam analgésico (Flunixinina Meglumina) e antibiótico (Cloridrato de Oxitetraciclina) ambos em dose única (Natalin et al 2016).Ap Após a cirurgia, os animais foram mantidos no Biotério.

## 6.5 TRATAMENTO

Foi utilizado um extrato aquoso das folhas da planta *Uncaria guianensis*.

Os ratos induzidamente hipertensos pelo modelo 2K1C e Sham foram tratados com administração via gavagem de 50 mg/kg/dia dos extratos de *U. guianensis* diluídos em água potável, por 6 semanas após a testagem para hipertensão. Uma nova rodada de experimentos foi realizada repetindo todo procedimento de indução da hipertensão arterial e alterando a dose de tratamento para 200 mg/kg/dia. Outros grupos de ratos hipertensos e Sham foram tratados com losartana na dose de 10mg/kg/dia também por 6 semanas. Ao todo foram avaliados 70 animais dos quais 53 alcançaram a sexta semana na primeira rodada de experimento, e na segunda rodada, 50 animais dos quais 31 alcançaram a sexta semana. A redução do número de animais se deve principalmente aos que não cursaram com elevação da pressão arterial. Sendo distribuídos em cinco grupos de tratamentos:

- 1) **Sham**
- 2) **Sham tratado com** extratos de *Uncaria guianensis* (50 mg/kg)
- 3) **Sham tratado com** extratos de *Uncaria guianensis* (200 mg/kg)
- 4) **2K1C**
- 5) **2K1C tratado com** extratos de *Uncaria guianensis* (50 mg/kg)
- 6) **2K1C tratado com** extratos de *Uncaria guianensis* (200 mg/kg)
- 7) **2K1C tratado com** Losartana (10mg/kg)

A Losartana é um fármaco antagonista do receptor AT1 para Angiotensina II e foi utilizada como controle positivo para avaliação dos efeitos anti-hipertensivos neste modelo experimental de hipertensão.

## 6.6 AVALIAÇÃO DA PRESSÃO ARTERIAL

Para avaliar os efeitos dos tratamentos sobre a HAS, a pressão arterial sistólica foi verificada semanalmente, por pletismografia de cauda, durante as 6 semanas do estudo. Os animais foram alocados em tubos de contenção e o manguito e um transdutor foi colocado

na cauda do animal. O transdutor é acoplado a um computador para aferição de pressão. Foram realizadas 13 medidas consecutivas, sendo as 3 primeiras descartadas. As medidas foram analisadas e as médias foram utilizadas para a análise estatística.

## 6.7 PESO DOS RINS, CORAÇÃO E HIPERTROFIA CARDÍACA

Após eutanásia, a aorta, coração, rins e tibia (esquerda) foram retirados dos animais.

Ambos os rins foram pesados para determinação da razão entre os pesos dos rins esquerdos (não clipados) sobre os dos rins direitos para a validação do modelo 2K1C.

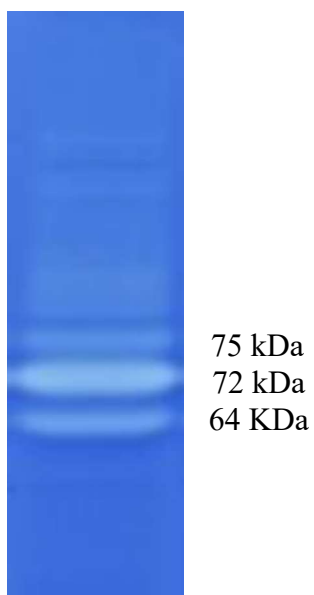
Os corações foram, separadamente, pesados para verificação de hipertrofia cardíaca e foram ajustados de acordo com a extensão da tibia do próprio animal.

## 6.8 DETERMINAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MMP-2 POR ZIMOGRAFIA EM GEL

Para determinar se os extratos de *U. guianensis* podem diminuir a atividade e expressão da MMP-2, essa metodologia foi utilizada como avaliação da expressão da MMP-2 na aorta e coração dos animais. A quantidade de MMP-2 foi determinada por meio da técnica de zimografia. As amostras dos tecidos foram pesadas e colocadas em microtubos *ependorf*<sup>®</sup>. Nesses tubos, foram adicionados 300 µL de tampão de extração (20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.4, 1 mmol/L 1,10- fenantrolina, 1 mmol/L fluoreto de fenil metil sulfonil (PMSF), 1 mmol/L N-etilmaleimida (NEM), e 10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>) para cada 0,03 g de tecido. As amostras foram trituradas e agitadas (na geladeira) por 2h para melhorar a extração de proteínas e posteriormente, foram centrifugadas (10000 *x g*, 15 minutos). O sobrenadante foi recolhido para a dosagem de proteínas pelo método de Bradford. As amostras (contendo 20 µg de proteína) foram diluídas no tampão de amostra (1:1, SDS 2%, Tris- HCl 125 mM, glicerol 10% e azul de bromofenol) para a aplicação no gel de eletroforese contendo gelatina 1%. Após preparadas, as amostras foram separadas por meio de eletroforese, em um sistema descontínuo de tampões, utilizando géis de poliacrilamida na concentração de 12%. Após eletroforese, esses géis foram submetidos a 2 banhos de Triton X-100, para remover o SDS e colocados em tampão de ativação (Tris-HCl contendo 50 mM cálcio), por 16 horas. Posteriormente, foram corados com solução Coomassie Blue. Com auxílio do programa ImageJ, as bandas encontradas nos géis

referentes à MMP-2 foram quantificadas. As formas latentes e ativas da MMP-2 foram identificadas por meio dos pesos moleculares: 75 kDa, 72 kDa e 64 kDa, respectivamente (Figura 4).

Figura 4 - Padrão zimográfico das bandas das isoformas de MMP-2



## 6.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

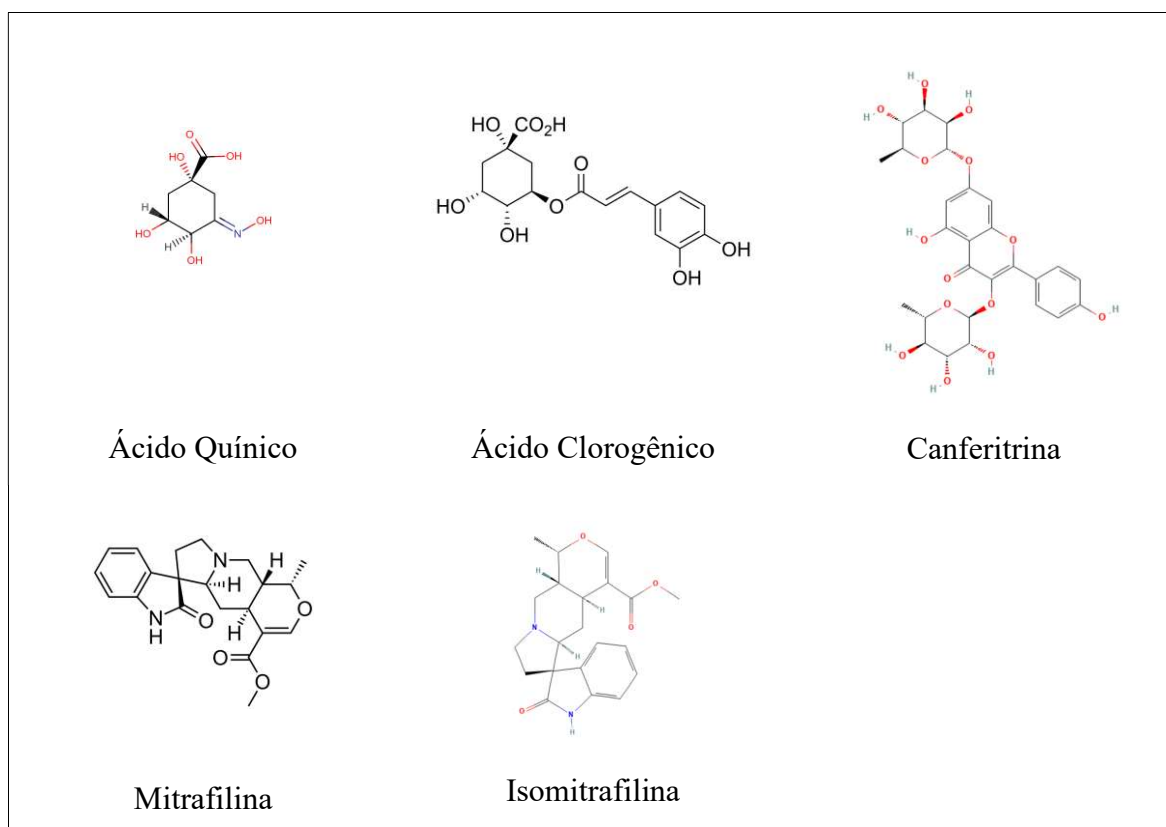
Os resultados obtidos neste estudo foram analisados por ANOVA. Foram considerados estatisticamente diferentes valores com  $p < 0,05$ . Os gráficos foram representados com média  $\pm$  erro padrão da média (SEM).

## 7 RESULTADOS

### 7.1 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DO EXTRATO

O extrato aquoso de *U. guianensis*, utilizado neste trabalho, foi caracterizado pela presença dos ácidos quínico e clorogênico (Figura 6), pelos alcaloides mitrafilina e isomitrafilina (Figura 7) e pelo flavonoide canferitrina (Figura 8). Estes compostos apresentam diferenças moleculares (Figura 5). O flavonoide identificado pelo espectro de MS/MS, apresentou picos de íons produtos de  $m/z$  433 e  $m/z$  287, os quais, como relatado na literatura, são característicos da estrutura química da substância canferitrina (Valente *et al.*, 2009).

Figura 5 - Estrutura molecular dos compostos caracterizados



Fonte: elaborado pelo autor por adaptações das moléculas encontradas em Pubchem

Figura 6 - Espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM): (A) padrão do ácido quínico, (B) padrão do ácido clorogênico e (C) extrato aquoso de *Uncaria guianensis*.

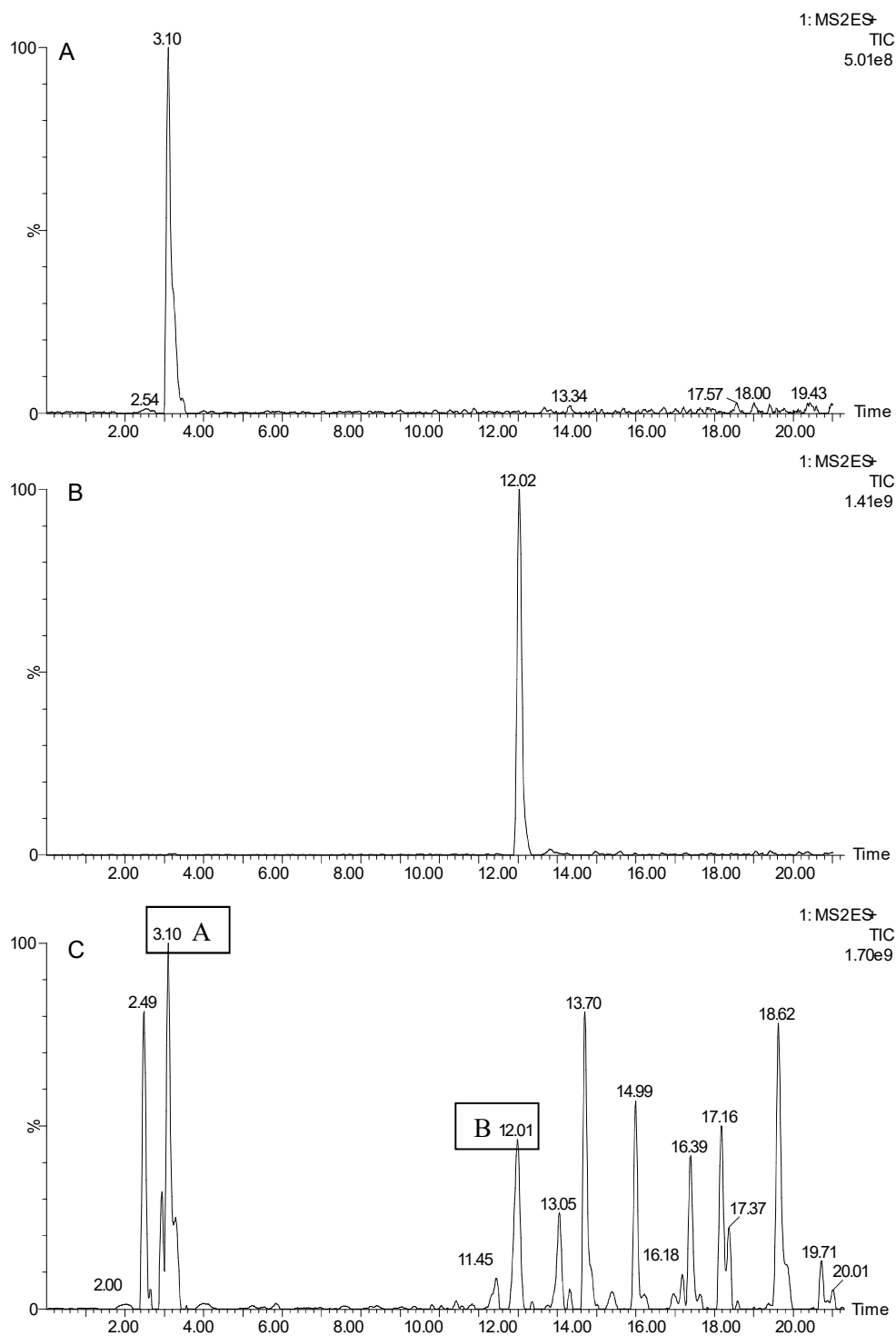


Figura 7 - Espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM) (A) padrão de mitrafilina, (B) padrão de isomitrafilina e (C) extrato aquoso de *Uncaria guianensis*.

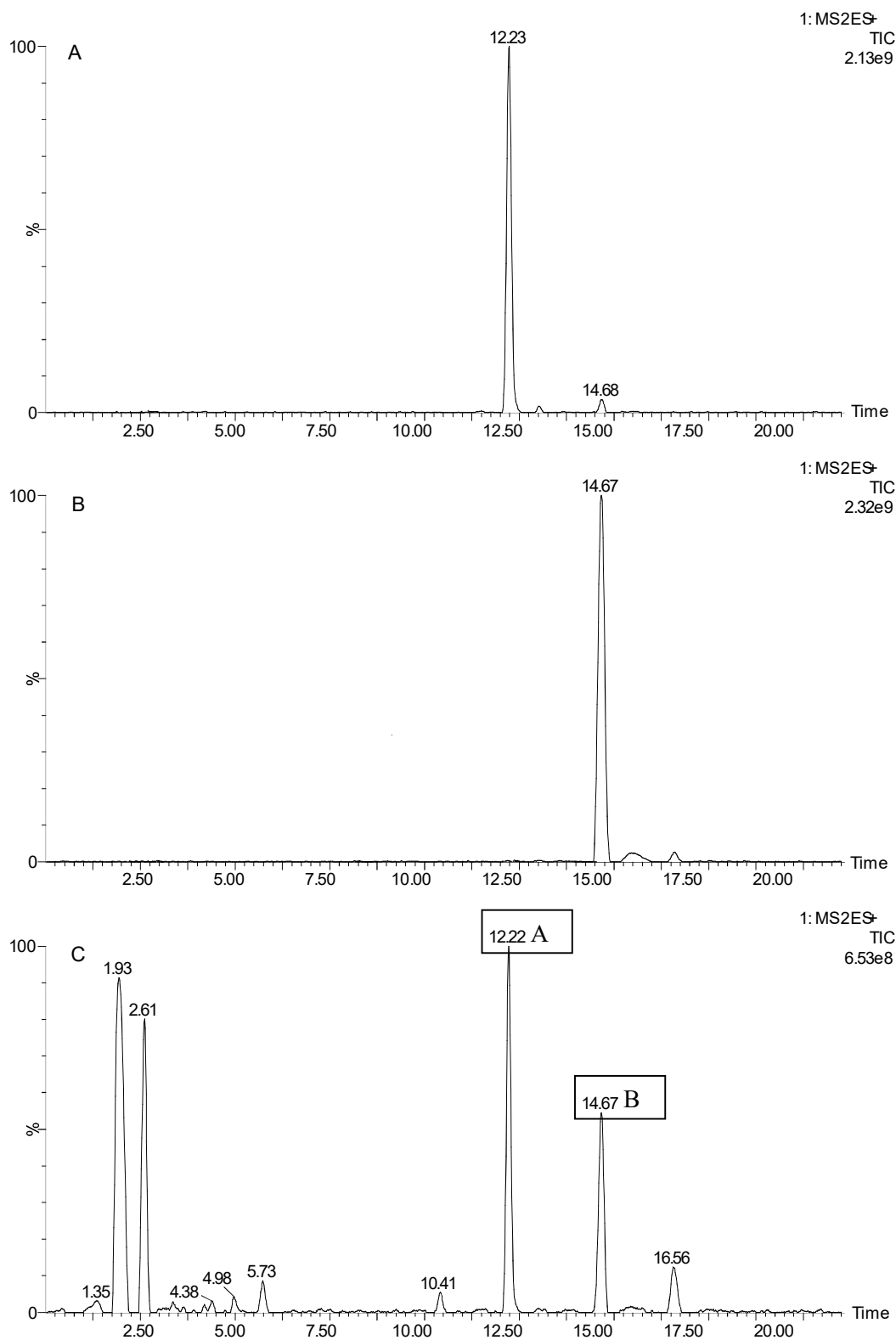
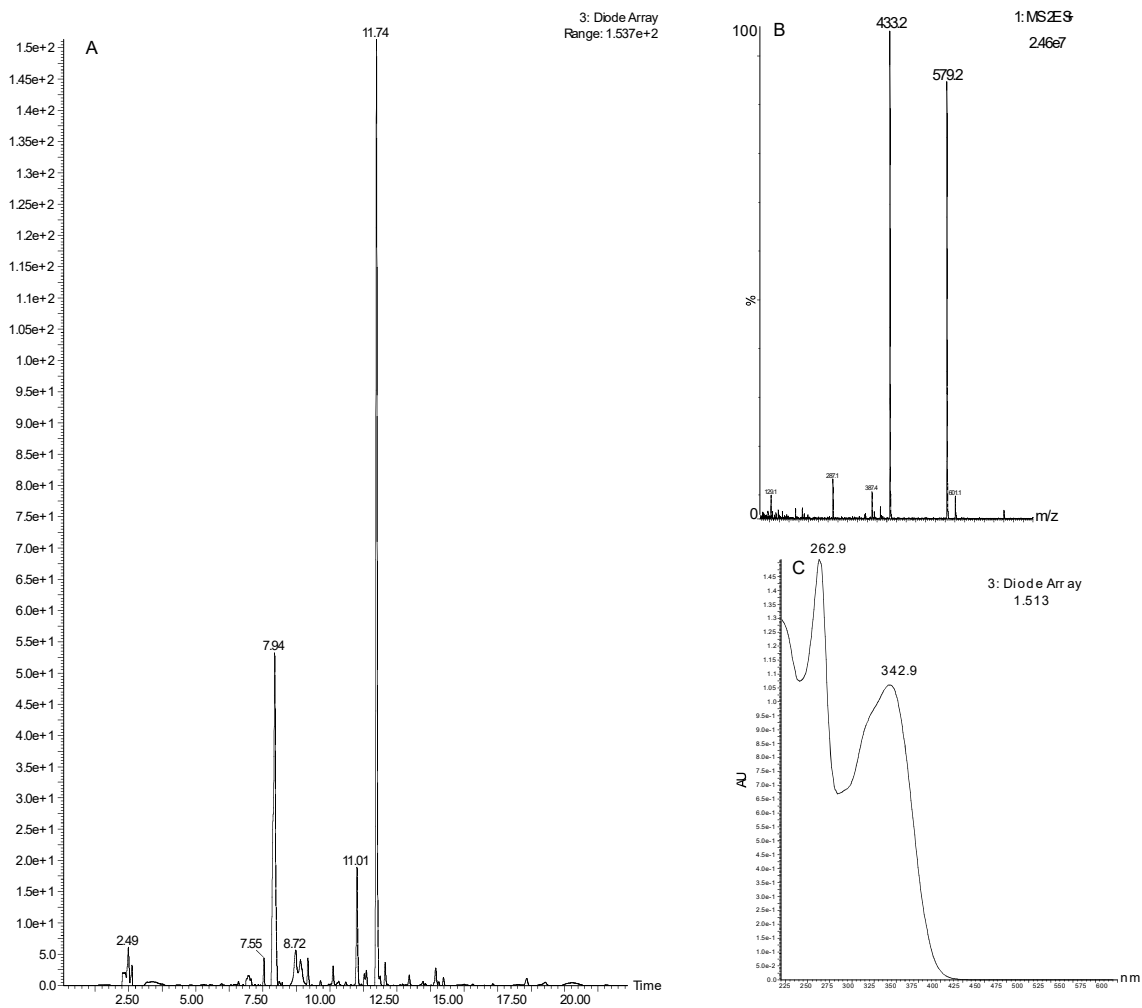


Figura 8. Cromatograma DAD e espectros de massa obtido em Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência (CLUE -EM) (A) extrato aquoso de *Uncaria guianensis*, (B) espectros de massa do flavonoide canferitrina e (C) Espectro ultravioleta do flavonoide canferitrina

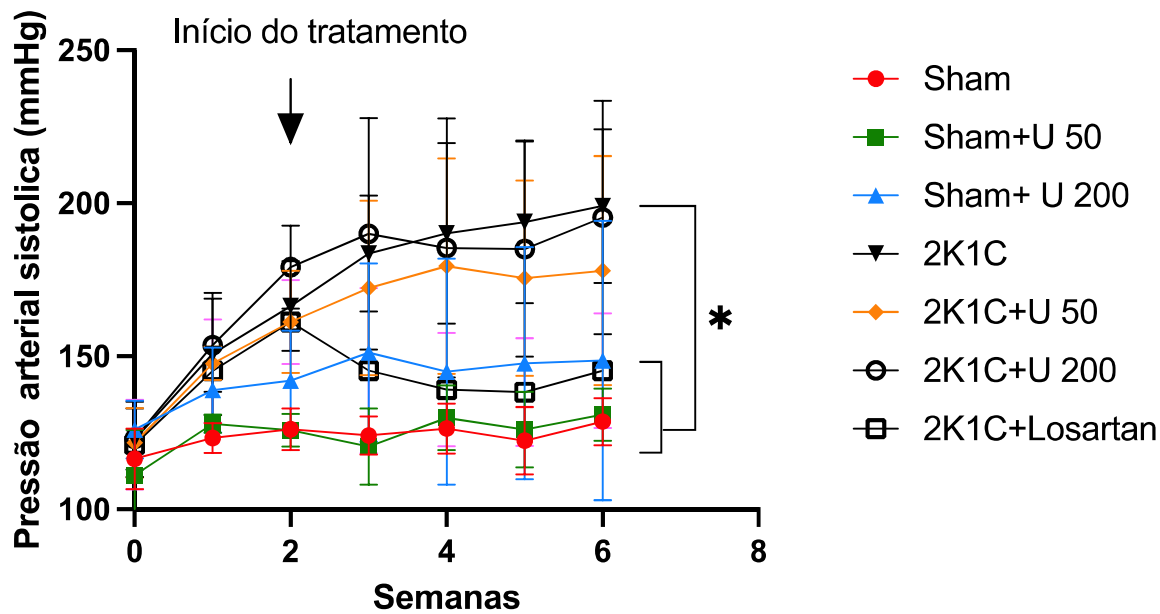


## 7.2 PRESSÃO ARTERIAL E INTERFERÊNCIA SOBRE O PESO DOS ANIMAIS

Os animais submetidos a técnica de 2K1C a partir da segunda semana de verificações de pressão arterial caudal registraram sempre pressão sistólica superior aos grupos restantes ( $P < 0001$ ). Os animais do grupo Sham foram os que tiveram os menores valores de pressão aferidos, sem apresentar diferenças significativas entre os Sham tratados com ambas as doses do extrato, no entanto, foi possível observar discreta elevação nos valores daqueles tratados com 200 mg/kg/dia. A maior queda de pressão arterial entre os

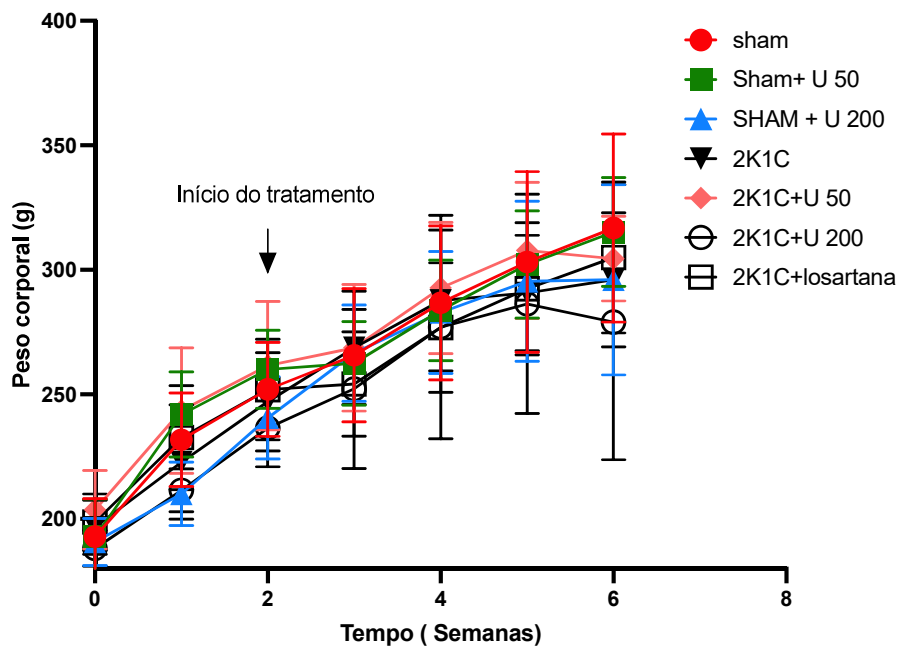
animais 2K1C tratados foi verificada no grupo Losartana ( $p < 0,001$ ) e foi comparável a pressão dos animais Sham. As comparações entre os grupos 2K1C/2K1C 50, e 2K1C/2K1C 200, não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,069$ ) (Figura 9).

Figura 9 - Efeito do tratamento com extrato aquoso de *Uncaria guianensis* nas doses de 50mg/kg e 200 mg/kg sobre a pressão arterial de ratos



Quanto ao peso dos animais, entre 2K1C e Sham e entre 2K1C e losartana, não houve diferença significativa. Todos os grupos tratados com extrato de *U. guianensis* apresentaram redução de peso, com a maior diferença entre as médias observada no grupo 2K1C+U200 ( $p = 0,0079$ ). (Figura 10)

Figura 10 - Efeito do tratamento com extrato aquoso de *Uncaria guianensis* nas doses de 50mg/kg e 200 mg/kg sobre o peso de ratos



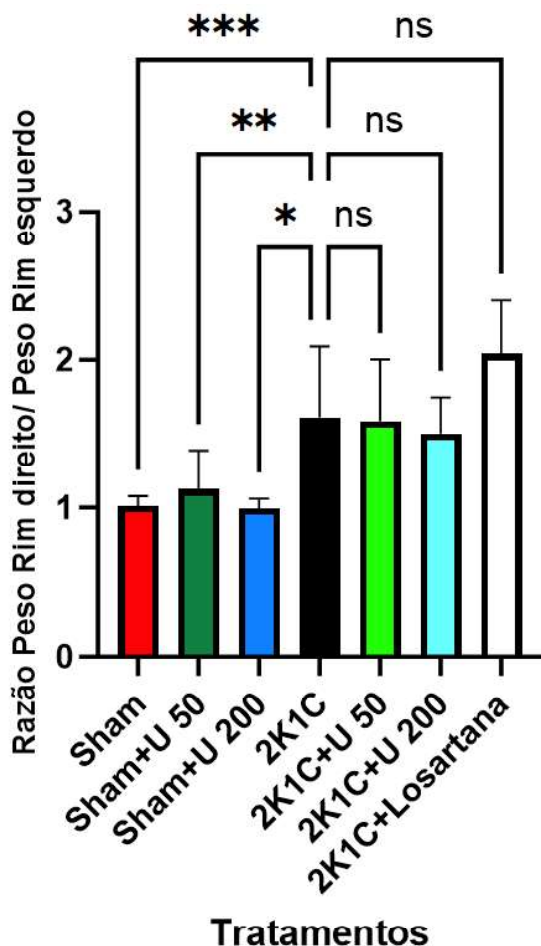
### 7.3 RELAÇÃO ENTRE OS RINS E ELEVAÇÃO DO PESO DO CORAÇÃO

Todos os animais submetidos a técnica 2K1C apresentaram relação do peso dos rins maior que 1, indicando a adaptação do rim direito e validando o objetivo da técnica de estenose no rim esquerdo (Figura 11A).

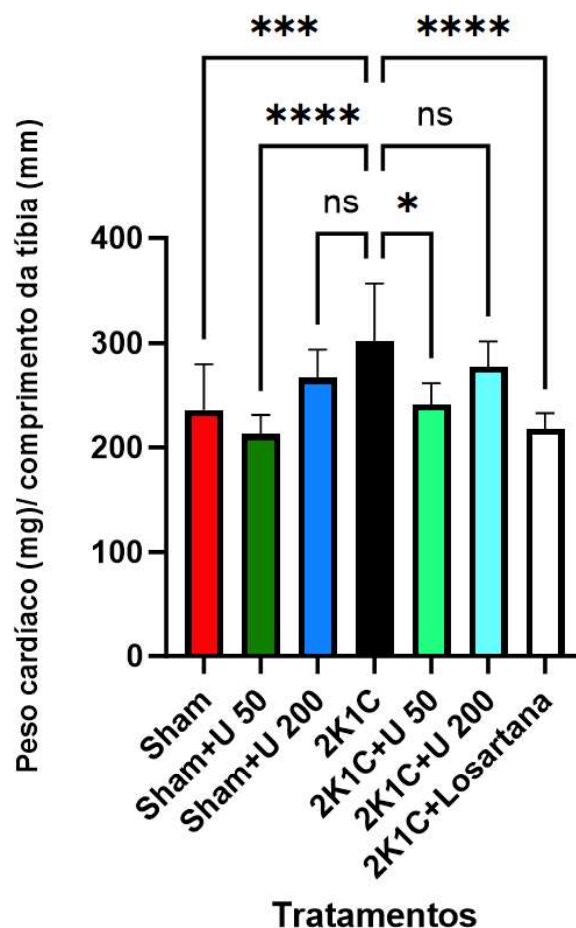
O modelo de hipertensão 2K1C, gerou nos animais uma elevação do peso do coração. O fármaco anti-hipertensivo losartana protegeu contra a elevação de peso cardíaco induzida pela pressão arterial. O extrato aquoso de *U. guianensis* na dose de 200 mg/kg não promoveu uma alteração significativa, porém, na dose menor, foi possível observar uma redução da hipertrofia cardíaca importante, com uma diferença significativa entre as médias do peso de aproximadamente 20% ( $p=0,002$ ). (Figura 11B)

Figura 11 - Efeitos dos tratamentos com extrato aquoso de *Uncaria guianensis* nas doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg sobre a hipertrofia renal (A) e cardíaca (B)

A



B



#### 7.4 ZIMOGRAFIA DA AORTA

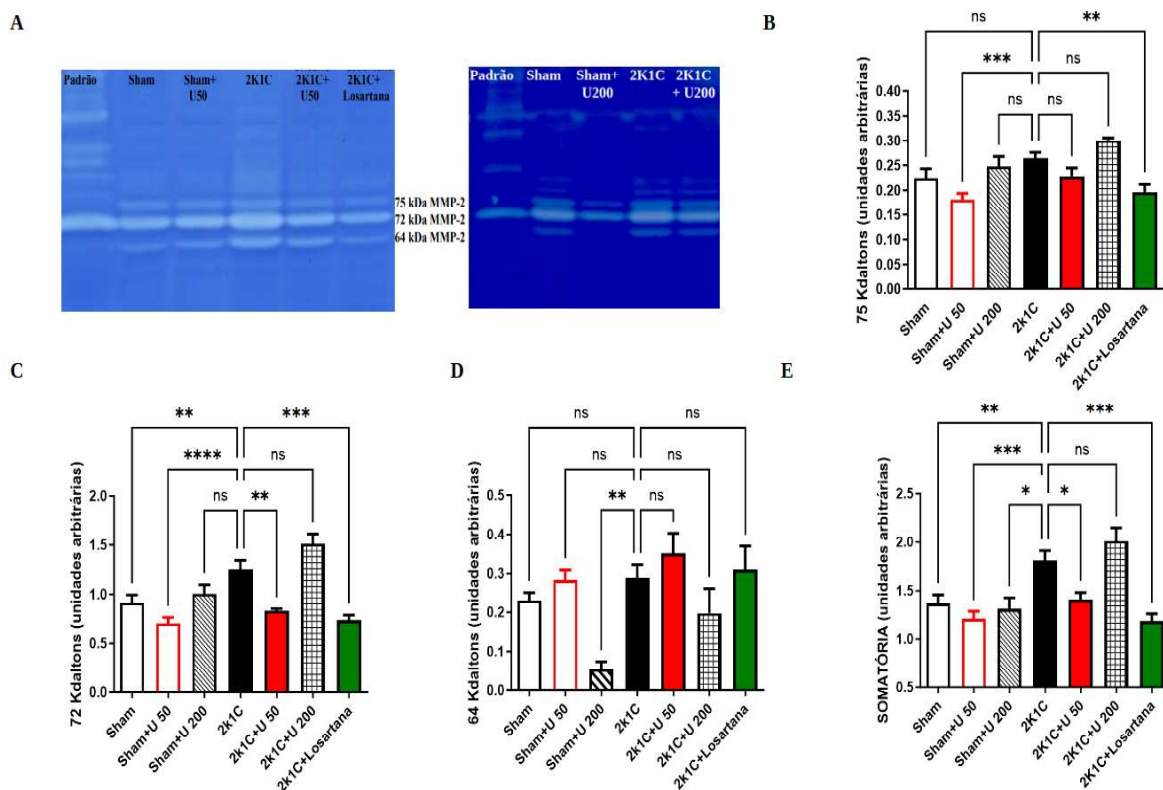
A MMP-2 nos ensaios de zimografia mostrou 3 isoformas, 75 kDa, 72 kDa e 64 kDa (Figura 12A). Os grupos Sham+U50 e 2K1C+Losartana diferiram estatisticamente do grupo hipertenso não tratado (2K1C) na isoforma 75kDa (Figura 12B).

Quanto a isoforma 72 kDa, a losartana também foi capaz de reduzir a isoforma nos hipertensos, quando se comparam 2K1C com Sham + U200, e 2K1C com 2K1C + U200 não foi possível confirmar as diferenças pois não são significativas. O extrato aquoso de *Uncaria guianensis* na dose de 50 mg/kg reduziu a presença da isoforma de 72 kDa na aorta dos animais hipertensos (Figura 12C).

Em relação a isoforma ativa da MMP-2, com 64kDa, apenas na comparação entre Sham tratados com a dose de 50 mg/kg do extrato, apresentaram valor menor do que os animais hipertensos não tratados, para as demais comparações não houve diferenças significativas, portanto, o extrato de aquoso de *U. guianensis*, nas doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg, em animais com hipertensão induzida pelo modelo 2K1C, não apresentou potencial em inibir a atividade da metaloproteinase (Figura 12D).

De uma forma geral, quando se somam todas as isoformas, é possível afirmar que os animais hipertensos não tratados apresentam mais MMP-2 do que os animais normotensos (Sham), além disso, em relação aos animais hipertensos tratados, a exceção dos que foram expostos a dose de 200 mg/kg ( $p>0,05$ ), todos tiveram a MMP-2 diminuída quando comparado aos hipertensos não tratados (2K1C). O extrato aquoso de *Uncaria guianensis* na dose de 50 mg/kg reduziu as todas isoformas somadas da MMP-2 na aorta dos animais hipertensos ( $p<0,0342$ ) (Figura 12E).

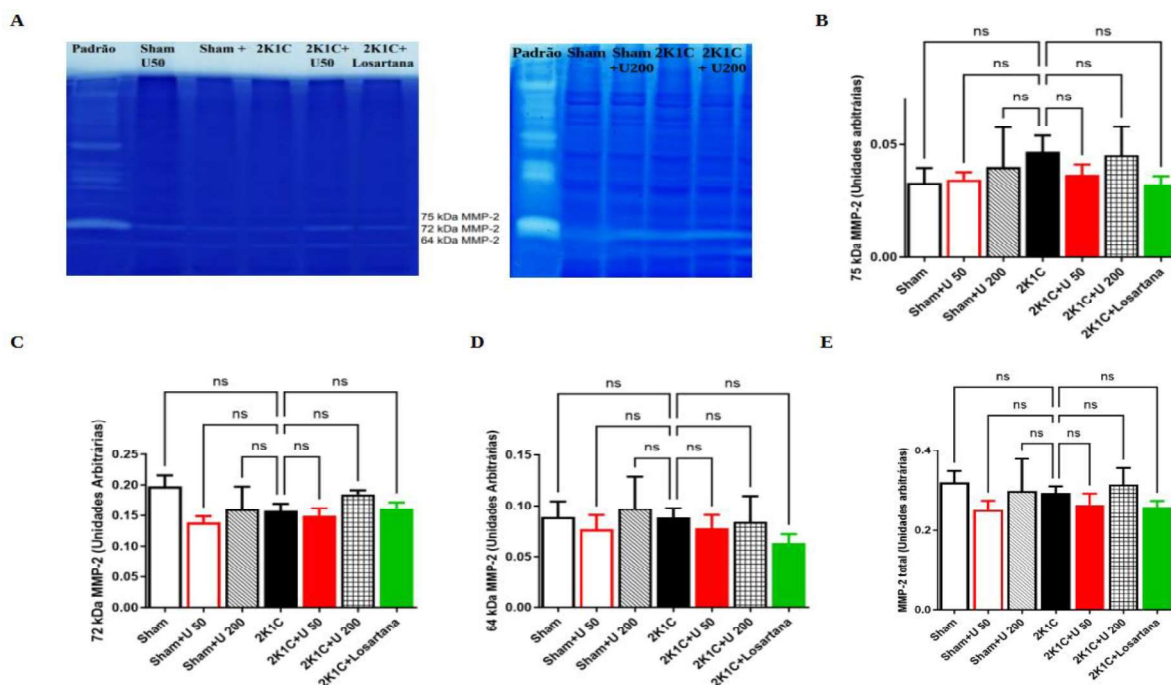
Figura 12 - Zimografia da aorta, tratamentos com doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg do extrato aquoso de *Uncaria guianensis* (A) Efeito dos tratamentos sobre a MMP-2 vascular (aorta), isoformas 75kDa (B), 72kDa (C), 64kDa (D) e somatória (E)



## 7.5 ZIMOGRAFIA DO CORAÇÃO

A MMP-2, nos ensaios de zimografia do coração (U50 e U200), revelou 3 isoformas, 75 kDa, 72 kDa e 64 kDa (Figura 13A). A isoforma da MMP-2 75KDa, parece estar elevada nos animais hipertensos, porém esta diferença não é considerada significativa. Entre os grupos 2K1C, aqueles tratados com o extrato parecem ter uma redução, também não significativa parece ainda mais reduzida nos expostos com losartana (Figura 13B). De forma semelhante, a isoforma com 72kDa não apresenta diferença significativa entre os grupos Sham e hipertensos, tratados ou não tratados (Figura 13C). Para a MMP-2 64kDa, isoforma com atividade catalítica ativa, continua aparecendo entre os grupos sem diferenças significativas (Figura 13D). E quando todas as isoformas são somadas, a análise continua sem apresentar diferença significativa entre os grupos dos animais. (Figura 13E), a relação entre o extrato aquoso de *U. guianensis* no tecido cardíaco não está relacionada com alterações significativas das isoformas de MMP-2.

Figura - 13. Zimografia do coração, tratamentos com doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg do extrato aquoso de *Uncaria guianensis* (A) Efeito dos tratamentos sobre a MMP-2 cardíaca, isoformas 64 kDa (B), 72 kDa (C), 75 kDa (D) e somatória (E)



## 8 DISCUSSÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é um dos fatores de risco cardiovasculares mais importantes (Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, 1993; Sociedade Brasileira de Hipertensão-SBH, 2010). Nos hipertensos é esperado que o aumento de tensão na parede dos vasos e coração promova alterações nas células e na matriz extracelular resultando em remodelamento cardiovascular promovendo lesões em órgãos como cérebro, rins, retina, vasos e coração (Praxedes *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2004). O sistema renina-angiotensina participa do curso da HAS, e a angiotensina II contribui para lesões de órgãos alvos, tanto pela sua atividade vasoconstritora, quanto pelas respostas proliferativas e inflamatórias. Ela eleva a expressão de moléculas de adesão, induz a liberação de citocinas como a TNF- $\alpha$ , MCP-1 e IL6 (Tedgui; Mallat, 2006), e a liberação destes fatores inflamatórios é independente da indução da hipertensão (Lima *et al.*, 2019).

O presente estudo mostrou que o extrato aquoso de *Uncaria guianensis* não reduziu a pressão arterial de ratos induzidamente hipertensos com a técnica de estenose monolateral da artéria renal (2K1C). Este modelo tem a Angiotensina II como principal responsável pelo curso da elevação da pressão arterial. Resultado diferente foi encontrado com o extrato aquoso comercial, denominado de AC11<sup>®</sup> (Optigenex Inc. Scottsdale, AZ, USA), produzido de casca de *U. tomentosa*, o qual reduziu a pressão arterial em camundongos (Oogaki *et al.*, 2021). Um outro trabalho realizado com extrato aquoso de *U. rhynchopylla*, com camundongos hipertensos induzidos por Angiotensina II, atenuou a elevação da pressão arterial e as principais substâncias encontradas no extrato foram isorinchofilina, rinchofilina, geissochizina e hirsutina (Xie *et al.*, 2022). Outros estudos demonstram que rinchofilina e isorinchofilina apresentam efeito hipotensor relacionado com inibição da vasoconstrição, por atividade no sistema nervoso simpático, e por bloqueio de canais de cálcio tipo L (Shi *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2010; Zhou, J; Zhou, S., 2012). Entretanto, é importante considerar que estes alcaloides não estão presentes na espécie *U. guianensis*.

O aumento de tensão na parede dos vasos e coração que ocorre na HAS promove alterações nas células e na matriz extracelular, o que resulta em intenso remodelamento cardiovascular e alteram a hemodinâmica de forma substancial promovendo lesões em órgãos como cérebro, rins, retina, vasos e coração (Praxedes *et al.*, 2001; Martin *et al.*,

2004). A hipertrofia dos cardiomiócitos ocorre para aliviar o estresse sob a parede do ventrículo esquerdo na hipertensão. A matriz extracelular, o citoesqueleto, o sarcômero, as proteínas do cálcio e o núcleo, junto com alterações na permeabilidade dos capilares, quimiocinas e infiltração de células inflamatórias no miocárdio, contribuem para o crescimento cardíaco (McMaster *et al.*, 2015; Altara *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2019). O extrato aquoso de *Uncaria guianensis* na dose de 50 mg/kg, parece ter interferido nestes processos de alguma forma, o peso do coração dos animais hipertensos tratados com essa dose, não teve a mesma elevação daqueles não tratados, o que mostra proteção. De forma semelhante, o extrato de *U. rhynchophylla*, atenuou modificações que participam do remodelamento cardíaco, além de também ter reduzido a síntese de colágeno na matriz extracelular cardíaca de camundongos hipertensos (Xie *et al.*, 2022). Em um estudo realizado sobre a interferência na distribuição de sódio, o extrato de *U. tomentosa* reduziu o nível de sódio cardíaco de ratos Wistar (Moreno *et al.*, 2007), e apesar dos autores não terem discutido as consequências desta redução, é possível inferir que talvez haja uma relação entre o menor arraste osmótico que se observa em menores concentrações de sódio com o menor peso do coração.

O remodelamento cardiovascular está diretamente relacionado à elevação da atividade das MMP (Rajzer *et al.*, 2017). A MMP-2 participa das alterações morfofuncionais presentes na HAS ( Galis; Khatri, 2002; Chow; Cena; Shultz, 2007; Castro *et al.*, 2008, 2009; Rizzi *et al.*, 2009, 2013; Chen *et al.*, 2013; Cau *et al.*, 2015). O estresse oxidativo é o principal fator ativador pós traducional da MMP-2 na fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica HAS (Rizzi *et al.*, 2013; Jacob; Shultz, 2013). Substâncias antioxidantes são capazes de atenuar a atividade das MMP e protegem contra o remodelamento cardiovascular (Ceron *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2016;).

Nossos dados não mostraram, nos ensaios de zimografia do coração de ratos, uma alteração significativa nos níveis de MMP-2, no entanto, na aorta desses animais, foi possível observar redução na isoforma de 72 kDa da MMP-2 com a menor dose utilizada nos ensaios. Além disso, quando todas as isoformas (75, 72 e 64 kDa) tiveram somadas suas análises zimográficas, foi possível observar que a mesma dose também causou uma redução das MMP-2 da aorta de forma significativa. É possível então afirmar que na dose de 50 mg/kg, o extrato aquoso de *U. guianensis* reduziu os níveis de MMP-2 na aorta. A isoforma de 72 kDa é ativada principalmente por ação de espécies reativas de oxigênio e quando isso ocorre há a exposição do sítio catalítico e essa isoforma passa a ter 64 kDa,

atuando como forma ativa. O extrato de *U. guianensis* não atuou de forma significativa na isoforma 64 kDa, então é possível que o efeito antioxidante dos alcaloides, ou de outras substâncias presentes no extrato da planta, tenham inibido a ativação da isoforma de 72 kDa e portanto não foi formada a MMP-2 na sua forma ativa (64 kDa). Além disso, a presença do flavonoide canferitrina no extrato também pode ter contribuído com esse efeito, por sua comprovada atividade antioxidante. Isto não explicaria a razão pela qual a isoforma de 72 kDa foi reduzida pelo extrato, o que pode ser sugestivo de uma inibição em nível traducional. Alguns estudos mostram que *U. guianensis* eleva a expressão de quimiocinas próinflamatórias como IL-6, IL-15, IL-17A e TNF- $\alpha$  e também as antiinflamatórias IL-4 e do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) o que de alguma forma poderia interferir na transcrição e expressão da MMP-2, e não pela inibição das espécies reativas de oxigênio, aliás, o extrato aquoso de *U. guianensis* elevou a produção de espécies reativas de oxigênio em um modelo de endometriose em que se observou a elevação destas citocinas (Hernandes *et al.*, 2020).

Apesar de encontrarmos proteção conferida pelo extrato aquoso de *U. guianensis*, ainda seria necessário incrementar nossos dados com a verificação da atividade da MMP-2 *in situ*, com a observação das alterações teciduais cardíacas e vasculares para entendermos a relação da presença verificada das MMP-2 com as alterações teciduais, para observar se o extrato traria ou não alguma alteração morfológica.

## 9 CONCLUSÃO

Nas condições ensaiadas, o extrato aquoso de *U guianensis* não reduziu a hipertensão arterial dos animais, entretanto, a menor dose avaliada, diminuiu a hipertrofia cardíaca, a isoforma 72 kDa e a somatória de todas as isoformas da MMP-2 vascular no tecido da aorta, mostrando um potencial para redução de lesões causadas pela hipertensão, em modelo 2K1C.

## REFERÊNCIAS

- AGUILAR, J. L. *et al.* Anti-inflammatory activity of two different extracts of *Uncaria tomentosa* (Rubiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 81, n. 2, p. 271–276, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12065162/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/s0378-8741(02)00093-4
- AL DISI, S. S.; ANWAR, M. A.; EID, A. H. Anti-hypertensive Herbs and their Mechanisms of Action: Part I. **Frontiers in Pharmacology**, v. 6, 19 jan. 2016. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.3389/fphar.2015.00323
- ALTARA, R. *et al.* The CXCL10/CXCR3 Axis and Cardiac Inflammation: Implications for Immunotherapy to Treat Infectious and Noninfectious Diseases of the Heart. **Journal of Immunology Research**, v. 2016, p. 1–12, 2016. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1155/2016/4396368.
- ANWAR, M. A.; AL DISI, S. S.; EID, A. H. Anti-Hypertensive Herbs and Their Mechanisms of Action: Part II. **Frontiers in Pharmacology**, [s. l.], v. 7, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00050>. Acesso at: 4 Dec. 2023. DOI: 10.3389/fphar.2016.00050.
- AMARAL, S. *et al.* Plant extracts with anti-inflammatory properties—A new approach for characterization of their bioactive compounds and establishment of structure–antioxidant activity relationships. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 1876–1883, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19201196/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1016/j.bmc.2009.01.045
- BELO VA, GUIMARÃES DA, CASTRO MM. Matrix Metalloproteinase 2 as a Potential Mediator of Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Chronic Vascular Remodeling in Hypertension. *J Vasc Res.* 2015;52(4):221-31. doi: 10.1159/000441621. Epub 2016 Jan 6. PMID: 26731549.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **DATASUS/MS/SVS/CGIAE - Sistema de Informações sobre Mortalidade SIM**. [Acesso em 19 de abr 2020]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def/2017-CID10-CapitulosI00-I99>; <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?ibge/cnv/poptuf.def>.
- BOJADZIEVSKI, P. The health services in Bitola through the centuries. **Bitola: Society of science and art**; 1992. pp. 15–27.
- BORS, W. *et al.* Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. **Methods Enzymol.** 1990;186:343-355. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2172711/>. doi:10.1016/0076-6879(90)86128-i
- CASTRO, M. M. *et al.* Antioxidant treatment reduces matrix metalloproteinase-2-induced vascular changes in renovascular hypertension. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 46, n. 9, p. 1298–1307, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19248829/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.02.011

CASTRO, M. M. *et al.* Metalloproteinase inhibition ameliorates hypertension and prevents vascular dysfunction and remodeling in renovascular hypertensive rats. **Atherosclerosis**, [s. l.], v. 198, n. 2, p. 320–331, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18054360/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2007.10.011

CARVALHO, M. V. *et al.* Investigations on the anti-inflammatory and anti-allergic activities of the leaves of *Uncaria guianensis* (Aublet) J. F. Gmelin. **InflammoPharmacology**, [s. l.], v. 14, n. 1–2, p. 48–56, 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-006-1509-5>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1007/s10787-006-1509-5.

CAU, S. B. A. *et al.* The Nuclear Factor kappaB Inhibitor Pyrrolidine Dithiocarbamate Prevents Cardiac Remodelling and Matrix Metalloproteinase-2 Up-Regulation in Renovascular Hypertension. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 117, n. 4, p. 234–241, 17 abr. 2015. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1111/bcpt.12400

CECHINEL-ZANCHETT, C. C. *et al.* *Bauhinia forficata* link, a Brazilian medicinal plant traditionally used to treat cardiovascular disorders, exerts endothelium-dependent and independent vasorelaxation in thoracic aorta of normotensive and hypertensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 243, p. 112118, out. 2019. DOI: 10.1016/j.jep.2019.112118.

CERON, C. *et al.* Spironolactone and hydrochlorothiazide exert antioxidant effects and reduce vascular matrix metalloproteinase-2 activity and expression in a model of renovascular hypertension. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 160, n. 1, p. 77–87, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20331602/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00678.x

CHAUDHURY, SUSHIL KUMAR. *et al.* *Ocimum sanctum* L. a potential angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor useful in hypertension. **Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR) [Formerly Natural Product Radiance (NPR)]**, Vol 5, (1) 2014. DOI: 10.56042/ijnpr.v5i1.1178

CHAN, P.; THOMAS, G.N.; TOMLINSON B. Protective effects of trilinolein extracted from *Panax notoginseng* against cardiovascular disease. **Acta Pharmacol Sin.** 2002;23(12):1157-1162. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12466054/>. PMID: 12466054

CHAPEL, H. *et al.* **Essentials of Clinical Immunology**. 6. ed.[S. l.]: John Wiley & Sons, 2013. *E-book*. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. ISBN: 978-1-118-47295-8

CHEN, Q. *et al.* Matrix Metalloproteinases: Inflammatory Regulators of Cell Behaviors in Vascular Formation and Remodeling. **Mediators of Inflammation**, [s. l.], v. 2013, p. 1–14, 2013. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1155/2013/928315

CHEN, X. *et al.* Effects of rhynchophylline and isorhynchophylline on nitric oxide and endothelin-1 secretion from RMECs induced by Listeriolysin O in vitro. **Veterinary Microbiology**, [s. l.], v. 143, n. 2–4, p. 262–269, 2010. Disponível

em:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20036082/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.11.008

CHOW, A. K.; CENA, J.; SCHULZ, R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 152, n. 2, p. 189–205, 2007b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17592511/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1038/sj.bjp.0707344

COGHLAN, M. L. *et al.* Deep Sequencing of Plant and Animal DNA Contained within Traditional Chinese Medicines Reveals Legality Issues and Health Safety Concerns. **PLoS Genetics**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. e1002657, 2012. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002657

COSTA, V. PROSPERDISTRIBUIDORA. Participação dos fitoterápicos no mercado brasileiro é ainda muito aquém do seu potencial e liderado por produtos estrangeiros, alerta especialista. Disponível em: <<http://prosperdistribuidora.com.br/participacao-dos-fitoterapicos-no-mercado-brasileiro-e-ainda-muito-aquem-do-seu-potencial-e-liderado-por-produtos-estrangeiros-alerta-especialista/>>. Acesso em: 25 Nov. 2023.

CUNHA, L.C.M.; MONTEIRO, M.L.G.; LORENZO, J.M.; *et al.* Natural antioxidants in processing and storage stability of sheep and goat meat products. **Food Research International**, v. 111, p. 379–390, 2018. DOI:10.1016/j.foodres.2018.05.041

DATLA, S. R.; GRIENDLING, K. K. Reactive Oxygen Species, NADPH Oxidases, and Hypertension. **Hypertension**, [s. l.], v. 56, n. 3, p. 325–330, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2947547/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.142422

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Assessment report on *Viscum album L.*, herba.** London. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). 20 November 2012. EMA/HMPC/246778/2009. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-viscum-album-l-herba\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-viscum-album-l-herba_en.pdf). Acesso em: 25 Nov. 2023

FENG Z, HOU J, YU Y, WU W, DENG Y, WANG X, ZHI H, ZHANG L, WU W, GUO DA. Dissecting the Metabolic Phenotype of the Antihypertensive Effects of Five *Uncaria* Species on Spontaneously Hypertensive Rats. **Front Pharmacol.** 2019 Jul 30;10:845. doi: 10.3389/fphar.2019.00845. PMID: 31417403; PMCID: PMC6682664.

FALKIEWICZ, B., LUKASIAK, J. Vilcacora [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. and *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmel.] –A review of published scientific literature. **American Journal of Case Reports**, 2 (4), 305-316. 2001

GALIS, Z. S.; KHATRI, J. J. Matrix Metalloproteinases in Vascular Remodeling and Atherogenesis. **Circulation Research**, [s. l.], v. 90, n. 3, p. 251–262, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11861412/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. PMID: 11861412

GANDHI, G. R. *et al.* Medicinal plants and natural molecules with in vitro and in vivo activity against rotavirus: A systematic review. **Phytomedicine**, v. 23, n. 14, p. 1830–1842, dez. 2016. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.1016/j.phymed.2016.11.005.

GONCALVES, C.; DINIS, T.; BATISTA, M. Antioxidant properties of proanthocyanidins of bark decoction: a mechanism for anti-inflammatory activity. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 66, n. 1, p. 89–98, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15649515/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1016/j.phytochem.2004.10.025

GUO, H. *et al.* Isorhynchophylline protects against pulmonary arterial hypertension and suppresses PSMCs proliferation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 450, n. 1, p. 729–734, jul. 2014. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.1016/j.bbrc.2014.06.044

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16105678/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.mam.2005.07.008

HARRISON, D. G. *et al.* Inflammation, Immunity, and Hypertension. **Hypertension**, [s. l.], v. 57, n. 2, p. 132–140, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21149826/> Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163576

HERNANDES, C. *et al.* The Effect of Rutin and Extracts of *Uncaria guianensis* (Aubl.) J. F. Gmeland on Primary Endometriotic Cells: A 2D and 3D Study. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1325, 13 mar. 2020. DOI: 10.3390/molecules25061325.

INTENGAN, H. D.; SCHIFFRIN, E. L. Vascular Remodeling in Hypertension. **Hypertension**, [s. l.], v. 38, n. 3, p. 581–587, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11566935/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1161/hy09t1.096249

JACOB-FERREIRA, A. L.; SCHULZ, R. Activation of intracellular matrix metalloproteinase-2 by reactive oxygen–nitrogen species: Consequences and therapeutic strategies in the heart. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [s. l.], v. 540, n. 1–2, p. 82–93, 2013. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.abb.2013.09.019

The fifth report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNCV). **Arch Intern Med**. 1993 Jan 25;153(2):154-83. PMID: 8422206.

KELLY, K. **The History of Medicine**. New York: Facts on file; 2009. pp. 29–50.

KIM, T.J. *et al.* Corynoxetine Isolated from the Hook of *Uncaria rhynchophylla* Inhibits Rat Aortic Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation through the Blocking of Extracellular Signal Regulated Kinase 1/2 Phosphorylation. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, [s. l.], v. 31, n. 11, p. 2073–2078, 2008. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18981576/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1248/bpb.31.2073.

LEMARIÉ, C. A.; THARAUX, P.L.; LEHOUX, S. Extracellular matrix alterations in hypertensive vascular remodeling. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 433–439, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19837080/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.09.018

LIMA, R.S.; SILVA, Juliane Cristina de Souza; LIMA, Cintia Taniguti; *et al.* Proinflammatory Role of Angiotensin II in the Aorta of Normotensive Mice. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–11, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9326896>

LIN, Z. *et al.* Fibulin-3 may improve vascular health through inhibition of MMP-2/9 and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. **Molecular Medicine Reports**, v. 13, n. 5, p. 3805–3812, 21 mar. 2016. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.3892/mmr.2016.5036

LOCK, O. *et al.* Bioactive Compounds from Plants Used in Peruvian Traditional Medicine. **Nat Prod Commun**. 2016 Mar;11(3):315-37. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27169179/>. PMID: 27169179.

LOH, Y. C. *et al.* Mechanisms of Action of *Uncaria rhynchophylla* Ethanollic Extract for Its Vasodilatory Effects. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 9, p. 895–911, set. 2017a. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1089/jmf.2016.3804.

MALTA DC, GONÇALVES RPF, MACHADO IE, FREITAS MIF, AZEREDO C, SZWARCOWALD CL *et al.* Prevalência da hipertensão arterial segundo diferentes critérios diagnósticos. Pesquisa Nacional de Saúde. **Rev Bras Epidemiol**. 2018; 21(sup 1): E180021.

MANKGA, L. *et al.* Efficacy of the core DNA barcodes in identifying processed and poorly conserved plant materials commonly used in South African traditional medicine. **ZooKeys**, [s. l.], v. 365, p. 215–233, 2013. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.3897/zookeys.365.5730

MARTIN, J. F. V. *et al.* Perfil de crise hipertensiva: prevalência e apresentação clínica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 83, n. 2, p. 125–130, 2004b. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15322655/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1590/s0066-782x2004001400004

MASHOUR, N. H.; LIN, G. I.; FRISHMAN, W. H. Herbal Medicine for the Treatment of Cardiovascular Disease. **Archives of Internal Medicine**, [s. l.], v. 158, n. 20, p. 2225, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9818802/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1001/archinte.158.20.2225

MCMMASTER, W. G. *et al.* Inflammation, Immunity, and Hypertensive End-Organ Damage. **Circulation Research**, v. 116, n. 6, p. 1022–1033, 13 mar. 2015. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303697.

MELLO, C. DA S. *et al.* Decrease in Dengue virus-2 infection and reduction of cytokine/chemokine production by *Uncaria guianensis* in human hepatocyte cell line Huh-7. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 458–468, jun. 2017. DOI: 10.1590/0074-02760160323.

MILLS KT, BUNDY JD, KELLY TN, REED JE, KEARNEY PM, REYNOLDS K, et al. Global disparities of hypertension prevalence and control: a systematic analysis of population-based studies from 90 countries. **Circulation**. 2016;134(6):441–50. 18.

MORENO, S. R. F. *et al.* Effect of oral ingestion of an extract of the herb *Uncaria tomentosa* on the biodistribution of sodium pertechnetate in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 1, p. 77–80, jan. 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2007000100010>

MOURA, M.D.G. *et al.* Oral herbal medicines marketed in Brazil for the treatment of osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 11, p. 1676–1685, 5 set. 2017. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.1002/ptr.5910

NATALIN HM et al. Resveratrol improves vasoprotective effects of captopril on aortic remodeling and fibrosis triggered by renovascular hypertension. **Cardiovasc Pathol**. 2016 Mar-Apr;25(2):116-9. doi: 10.1016/j.carpath.2015.11.003. Epub 2015 Nov 11. PMID: 26764145.

NAKMAREONG, S. *et al.* Antioxidant and vascular protective effects of curcumin and tetrahydrocurcumin in rats with l-NAME-induced hypertension. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s. l.], v. 383, n. 5, p. 519–529, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21448566/> Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1007/s00210-011-0624-z

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in blood pressure from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 populationbased measurement studies with 19·1 million participants. **Lancet**. 2017;389(10064):37-55.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod**. v. 83, n.3 p.770-803, mar. 2020. DOI:10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

OOGAKI, Y. *et al.* *Uncaria tomentosa* extract (AC-11) improves pregnancy hypertension together with suppression of sFlt-1 and sEng. **Pregnancy Hypertension**, v. 26, p. 127–132, dez. 2021. DOI: 10.1016/j.preghy.2021.10.013. .

PISCOYA, J. *et al.* Efficacy and safety of freeze-dried cat's claw in osteoarthritis of the knee: mechanisms of action of the species *Uncaria guianensis*. **Inflammation Research**, [s. l.], v. 50, n. 9, p. 442–448, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11603848/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1007/PL00000268

PRAXEDES, J.N.; SANTELLO, J.L.; AMODEO, C.; GIORGI, D.M.; MACHADO, C.A.; JABUR, P. Encontro multicêntrico sobre crises hipertensivas: relatório e recomendações. **Hipertensão**. 2001;4(1):23-41

SANDOVAL, M. *et al.* Cat's claw inhibits TNF $\alpha$  production and scavenges free radicals: role in cytoprotection. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 71–78, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10962207/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/s0891-5849(00)00327-0

RAJZER, M. *et al.* The effect of antihypertensive treatment on arterial stiffness and serum concentration of selected matrix metalloproteinases. **Archives of Medical Science**, v. 4, p. 760–770, 2017. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.5114/aoms.2016.58825

RIZZI, E. *et al.* Evidence of early involvement of matrix metalloproteinase-2 in lead-induced hypertension. **Archives of Toxicology**, [s. l.], v. 83, n. 5, p. 439–449, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18836702/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1007/s00204-008-0363-1

RIZZI, E. *et al.* Tempol inhibits TGF- $\beta$  and MMPs upregulation and prevents cardiac hypertensive changes. **International Journal of Cardiology**, [s. l.], v. 165, n. 1, p. 165–173, 2013. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.08.060

RIZZI, E. *et al.*  $\beta$ 1-Adrenergic blockers exert antioxidant effects, reduce matrix metalloproteinase activity, and improve renovascular hypertension-induced cardiac hypertrophy. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 73, p. 308–317, 2014. Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.024

RUDDY, J. M. *et al.* Differential Effects of Mechanical and Biological Stimuli on Matrix Metalloproteinase Promoter Activation in the Thoracic Aorta. **Circulation**, [s. l.], v. 120, n. 11\_suppl\_1, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2774261/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.843581

SANDOVAL, M. *et al.* Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 325–337, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12120814/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. doi:10.1078/0944-7113-00117

SCHIEBER, M.; CHANDEL, N. S. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. **Current Biology**, v. 24, n. 10, p. R453–R462, maio 2014. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1016/j.cub.2014.03.034

SHI, J.S.; YU, J.X.; CHEN, X.P.; XU, R.X. Pharmacological actions of *Uncaria alkaloids*, rhynchophylline and isorhynchophylline. **Acta Pharmacol Sin**. 2003 Feb;24(2):97-101. Disponível em : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12546715/>. PMID: 12546715.

SINGH, S.; MAJUMDAR, D. K. Anti-inflammatory and Antipyretic Activities of *Ocimum Sanctum* Fixed Oil. **International Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 33, n. 4, p. 288–

292, 1995. Disponível em: <https://eurekamag.com/research/002/756/002756181.php>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.3109/13880209509065380

SITI, H. N.; KAMISAH, Y.; KAMSIAH, J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). **Vascular Pharmacology**, v. 71, p. 40–56, ago. 2015. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI: 10.1016/j.vph.2015.03.005

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA; SOCIEDADE BRASILEIRA DE HIPERTENSÃO; SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. **VI Brazilian Guidelines on Hypertension**. Arq Bras Cardiol. 2010;95(1 Suppl):1-51. Erratum in: Arq Bras Cardiol. 2010;95(4):553.

TEDGUI, A.; MALLAT, Z. Cytokines in Atherosclerosis: Pathogenic and Regulatory Pathways. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 86, n. 2, p. 515–581, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2005>. Acesso em: 25 Nov. 2023.

THAHA, M.; TANUSEPUTRA, E. S.; TOMINO, Y. Reactive Oxygen Species, Nitric Oxide and the Kidney. **Juntendo Medical Journal**, [s. l.], v. 56, n. 1, p. 37–44, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/285790829\\_Reactive\\_Oxygen\\_Species\\_Nitric\\_Oxide\\_and\\_the\\_Kidney](https://www.researchgate.net/publication/285790829_Reactive_Oxygen_Species_Nitric_Oxide_and_the_Kidney). Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.14789/pjmj.56.37

THE FIFTH REPORT OF THE JOINT NATIONAL COMMITTEE ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD PRESSURE (JNC V). **Archives of Internal Medicine**, [s. l.], v. 153, n. 2, p. 154, 1993. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8422206/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1001/archinte.1993.00410020010002

TIRLONI, C. A. S. et al. Ethnopharmacological investigations of the cardio-renal properties of a native species from the region of Pantanal, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 206, p. 125–134, jul. 2017. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.1016/j.jep.2017.05.027

TUCAKOV J. **Healing with plants**. Beograd: Rad; 1990. pp. 576–8.

VALENTE, L. M. M. et al. Kaempferitrin from *Uncaria guianensis* (Rubiaceae) and its potential as a chemical marker for the species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1041–1045, 2009. DOI: 10.1590/S0103-50532009000600007

VOGEL, N. W. *et al.* Assessment of the antimicrobial effect of three plants used for therapy of community-acquired urinary tract infection in Rio Grande do Sul (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 137, n. 3, p. 1334–1336, 2011. Disponível em: Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI:10.1016/j.jep.2011.07.070

WANG, Z. *et al.* Interleukin-1 $\beta$  Induces Migration of Rat Arterial Smooth Muscle Cells Through a Mechanism Involving Increased Matrix Metalloproteinase-2 Activity. **Journal of Surgical Research**, [s. l.], v. 169, n. 2, p. 328–336, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20371087/>. Acesso em: 25 Nov. 2023. DOI: 10.1016/j.jss.2009.12.010

XIE, L. et al. *Uncaria rhynchophylla* attenuates angiotensin II-induced myocardial fibrosis via suppression of the RhoA/ROCK1 pathway. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 146, p. 112607, fev. 2022. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112607

ZHANG, Q. et al. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Uncaria*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 48–80, set. 2015. Acesso em: 25 nov. 2023. DOI:10.1016/j.jep.2015.06.011

ZHOU, J.-Y.; ZHOU, S.-W. Isorhynchophylline: A plant alkaloid with therapeutic potential for cardiovascular and central nervous system diseases. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 83, n. 4, p. 617–626, 2012. Disponível em :<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.02.010>. Acesso em: 25 Nov. 2023.