

Análise Fitoquímica Preliminar e Avaliação da Atividade Analgésica de Extratos Hidroalcoólicos de *Malvaviscus arboreus* e *Hibiscus tiliaceus* (Malvaceae)

Preliminary Phytochemical Analysis and Evaluation of Analgesic Activity of Hydroalcoholic Extracts of Malvaviscus arboreus and Hibiscus tiliaceus (Malvaceae)

Rodolfo G. A. V. Pedroso,^{a,*} Aurea Echevarria,^{a,*} Marcia C. C. Oliveira,^a Miriam E.C. Faria,^b Bruno G. Marinho^{b,*}

^aUniversidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil

^bUniversidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Laboratório de Farmacologia da Inflamação e Nocicepção, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil

*Email: echevarria@ufrj.br
bruno.marinho78@hotmail.com

Submissão: 05 de Junho de 2025

Aceite: 14 de Outubro de 2025

Publicado online: 27 de Outubro de 2025

Medicinal plants have been used as therapeutic agents for millennia due to their intrinsic properties and therapeutic or curative potential. The species *Malvaviscus arboreus* and *Hibiscus tiliaceus*, belonging to the Malvaceae family, have been considered promising sources of bioactive compounds with pharmacological potential. This study aimed to investigate the hydroalcoholic extracts of the species *Malvaviscus arboreus* and *Hibiscus tiliaceus* for the presence of flavonoids and phenols, as well as their analgesic activities. The species were collected on the UFRJ campus, and the extracts were obtained using an ethanol: water (70:30, v/v) mixture by maceration. The determination of total phenols was performed by the Folin-Ciocalteu method, and the flavonoid content using aluminum chloride, in addition to the preliminary analysis of these metabolites by 1D and 2D NMR. The tests to evaluate the antinociceptive effect were performed using male Swiss mice and the acetic acid-induced abdominal contortions model, as well as the non-inflammatory tail withdrawal pain model. The hydroalcoholic extracts of *H. tiliaceus* and *M. arboreus* exhibit the presence of phenols and flavonoids, and porphyrins, respectively, which contribute to their significant antinociceptive activity in chemical and thermal stimulation models, through the involvement of the NO/cGMP/K+ATP pathway at peripheral, spinal, and/or supraspinal neuronal levels.

Keywords: *Malvaviscus arboreus*; *Hibiscus tiliaceus*; flavonoids; phenols; porphyrins; ethnopharmacology.

1. Introdução

As plantas medicinais têm sido utilizadas como agentes terapêuticos de cura há milênios, para amenizar e curar diversas enfermidades.¹ A sua utilização ao longo da história ocorreu devido ao conhecimento sobre plantas que auxiliavam no tratamento de doenças, a partir de seu potencial terapêutico ou curativo, por sucessivas gerações. No mundo, atualmente, cerca de 80% da população utiliza as plantas medicinais como recurso para o tratamento ou alívio de alguma enfermidade.² O Brasil possui cerca de 20% da flora mundial e a maior biodiversidade genética do mundo apresentando, assim, um grande potencial terapêutico utilizando suas espécies vegetais.³

Considerando-se o uso de plantas medicinais para os diversos males que cometem os seres humanos e animais, a dor e a inflamação foram os alvos deste estudo.

Originalmente, a pesquisa na área do controle da dor e dependência de medicamentos se concentrou, exclusivamente, em produtos naturais.⁴ O estudo de novas formulações analgésicas contendo extratos de plantas e seus metabólitos secundários continua crescendo devido à enorme variedade de espécies vegetais,³ além do desenvolvimento de derivados semissintéticos e sintéticos a partir de produtos naturais isolados, ou ainda, utilizando-os como protótipos, que também foram introduzidos no mercado.² Inúmeras pesquisas estão sendo atualmente desenvolvidas, exclusivamente, para avaliar o efeito anti-inflamatório e analgésico em espécies vegetais nativas do Brasil ou exóticas.^{5,6}

A investigação da eficácia dos remédios à base de plantas, utilizados na medicina tem mostrado grandes avanços, devido aos menores custos e efeitos colaterais reduzidos.⁷ Assim, os extratos, frações e metabólitos secundários ativos isolados e caracterizados farmacologicamente provenientes de espécies vegetais continuam a ser utilizados como fontes importantes de novas preparações terapêuticas.¹

Neste contexto, estudos diversificados para determinar as potenciais atividades farmacológicas, e as descobertas de novos fito medicamentos a partir de espécies vegetais evoluíram para inclusão de numerosos campos de investigação e vários métodos de análise.⁴ Os metabólitos secundários obtidos a partir de plantas têm, ao longo dos anos, contribuído sobremaneira para o entendimento atual dos importantes mecanismos relacionados, por exemplo, ao processo de transmissão e tratamento da dor e da inflamação.⁸

Portanto, no presente estudo selecionou-se a família Malvaceae devido à sua ampla distribuição em regiões tropicais e temperadas em todo o mundo,⁹ assim como pela ausência de estudos quanto aos efeitos analgésicos das espécies *Malvaviscus arboreus* e *Hibiscus tiliaceus* nas condições de extração estudadas neste trabalho. A família Malvaceae é formada de aproximadamente 243 gêneros com 4225 espécies de ervas, arbustos e árvores.¹⁰ No Brasil, são mencionados 35 gêneros e 400 espécies distribuídas por todo território. Diversas classes de metabólitos secundários foram identificadas nas espécies de Malvaceae como esteroides, terpenos, ácidos fenólicos, alcaloides, flavonoides e cumarinas.¹¹

As espécies *Malvaviscus arboreus* e *Hibiscus tiliaceus* pertencem a família Malvaceae e foram selecionadas para este estudo. Adicionalmente, a espécie *Malvaviscus arboreus* Cav., chamada de hibisco-colibri, é nativa do México e norte da América do Sul, porém amplamente distribuída em toda América tropical, sendo utilizada, principalmente, como planta ornamental em cercas-vivas ou isolada devido ao seu manejo simples e floração durante todo o ano.¹² A espécie *Hibiscus tiliaceus*, vulgarmente chamada algodoeiro-da-praia, é originária do Velho Mundo, é bem adaptada em diversos climas e pode ser encontrada, principalmente, em ambientes costeiros de rios, praias e mangues. Sua madeira é amplamente utilizada na construção civil e outros fins.¹³

Considerando que as espécies *M. arboreus* e *H. tiliaceus* têm sido reconhecidas como fontes promissoras de compostos bioativos com potencial farmacológico, é importante destacar que muitos dos seus metabólitos secundários ou até mesmo seus extratos brutos ainda não foram completamente caracterizados e investigados quanto às suas atividades biológicas. Efeitos farmacológicos como anticonvulsante,¹⁴ e gastroprotetor¹⁵ têm sido recentemente relatados para a espécie *M. arboreus*, além do uso de suas flores^{16,17} na dieta humana devido a suas distintas propriedades sensoriais e benefícios para a saúde. Metabólitos secundários da espécie *H. tiliaceus* foram avaliados, recentemente, com relatos do efeito inibidor da melanogenese e da enzima tirosinase,¹⁸ do efeito citotóxico frente a células HeLa,¹⁹ e frente a células de câncer de mama triplo-negativas MDA-MB-231.²⁰

Além disso, a busca por novos tratamentos é de extrema relevância considerando a resistência aos medicamentos e os efeitos colaterais associados. Logo, o estudo de

extratos vegetais com potencial atividade anti-inflamatória e analgésica, favorece a possibilidade de resultados promissores, com a descoberta de alternativas terapêuticas mais seguras e eficazes. Neste sentido o presente estudo teve como objetivo avaliar os extratos hidroetanólicos das espécies *Malvaviscus arboreus* e *Hibiscus tiliaceus* (Figura 1), que pertencem a família Malvaceae, quanto ao conteúdo de flavonoides e fenóis totais, além de suas atividades anti-inflamatória e analgésica.



Figura 1. Imagens das espécies (A) *Malvaviscus arboreus* e (B) *Hibiscus tiliaceus*

2. Parte Experimental

2.1. Geral

Os espectros de infravermelho foram obtidos em espectrômetro da Bruker FTIR, modelo Vertex 70, utilizando a técnica ATR (do inglês Attenuated Total Reflectance). Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN de hidrogênio e carbono-13 uni e bi-dimensionais) foram obtidos em espectrômetro da Bruker Avance III Ultrashield Plus (¹H, 500 MHz; ¹³C, DEPTQ, 125 MHz, e os experimentos 2D HMBC e HSQC), utilizando TMS como referência interna e clorofórmio-d₆ na solubilização das amostras. A determinação dos valores de fenóis e flavonoides totais foi realizada em espectrofotômetro Bruker modelo RDL 80255 nos comprimentos de onda em 760 nm e 415 nm, respectivamente.

2.2. Material vegetal e preparação dos extratos

As espécies *M. arboreus* e *H. tiliaceus* (família Malvaceae) foram coletadas no campus da UFRRJ em janeiro de 2024, identificadas pela Dra. Eliane de Lima Jacques do Departamento de Botânica da UFRRJ, sendo as exsiccatas sob números RBR 62024 e RBR 62026, respectivamente, depositadas no Herbário do Departamento de Botânica da UFRRJ. A pesquisa dessas espécies foi registrada na plataforma do Sistema Nacional de Gerenciamento do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob número AE7C369.

O material vegetal, constituído das folhas e caules *in natura*, 1288 g de *M. arboreus* e 522 g de *H. tiliaceus*,

foi triturado em moinho de facas e seco em estufa com circulação de ar. Os extratos vegetais das duas espécies, após secagem, foram preparados pela técnica da maceração estática em etanol:água (70:30 v/v) durante 7 dias ao abrigo da luz. Os solventes foram retirados por evaporação rotatória, e os extratos brutos de 33 g da espécie *M. arboreus* e 29 g da espécie *H. tiliaceus* foram, posteriormente, submetidos à investigação das principais classes de metabólitos secundários utilizando-se os espectros de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono-13.

2.3. Avaliação de flavonoides totais

A metodologia utilizada para a preparação das amostras para análise de flavonoides totais foi de acordo com a literatura,²¹ com algumas alterações. Foram utilizadas alíquotas 0,5 mL contendo as amostras dos extratos e adicionadas a 4,3 mL de etanol 70%, 0,1 mL de AlCl_3 10% (m/v) e 0,1 mL de solução de acetato de potássio a 1 mol L^{-1} . Posteriormente, foi realizada a leitura das amostras, 30 min após seu preparo, em espectrofotômetro em comprimento de onda de 415 nm. O controle positivo foi preparado sem a adição de AlCl_3 na amostra para leitura. Como padrão de flavonoide foi utilizada a quercetina através de curva de calibração com seis concentrações, 6,25; 12,5; 25; 50; 75 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Todas as análises foram feitas em triplicata em cada concentração e os resultados expressos em mg g^{-1} de equivalentes em quercetina.

2.4. Avaliação de fenóis totais

A determinação de fenóis totais foi baseada no método de Folin-Ciocalteu, e a metodologia aplicada de acordo com a literatura²² com algumas modificações. As amostras foram diluídas a uma concentração de 150 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Cada amostra foi preparada em triplicata e alíquotas de 1 mL de extrato diluídos em 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 10% (v/v) obtido recentemente e adicionado a 2,0 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (m/v). A mistura resultante com volume final de 5,5 mL foi incubada a 50 °C por 5 min e, posteriormente, resfriada a temperatura ambiente. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 760 nm em espectrofotômetro. A curva de calibração foi construída usando ácido gálico como padrão de referência em 7 concentrações, sendo elas 10; 25; 35; 50; 75; 100 e 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A concentração de fenóis totais foi expressa em mg g^{-1} de ácido gálico (AG).

2.5. Ensaios biológicos

2.5.1. Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos, com peso de 30-45 g. O protocolo para este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (CEUA-ICBS/UFRRJ),

número 032/2018. Os animais foram obtidos do Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas/ ICBS/ UFRRJ, e mantidos em ambiente com temperatura controlada (22 ± 1 °C) e ciclo claro-escuro de 12 h. Água e alimentação foram mantidas à disposição dos animais, porém, a ração foi retirada 8 h antes da administração oral do extrato.

2.5.2. Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

Este modelo foi usado para triagem da atividade antinociceptiva.²³ Os animais foram tratados por via oral com solução salina, veículo, morfina (5 mg kg^{-1}) e extratos (10, 50 e 100 mg kg^{-1}). As contorções abdominais foram induzidas pela administração intraperitoneal de 0,01 mL g^{-1} de ácido acético (0,8% v/v). A contagem do número de contorções foi iniciada imediatamente após a injeção e permaneceu por um período de 30 min. O padrão de contorção abdominal estabelecido para contagem foi o aparecimento de fortes contrações abdominais, alongamento de todo o corpo do animal, seguido pelo alongamento dos membros posteriores e contato do abdômen com o assoalho do recipiente em que o animal se encontrava.

2.5.3. Modelo de retirada de cauda

Este modelo foi utilizado para avaliação da atividade antinociceptiva não inflamatória.²⁴ Os animais foram tratados por via oral com solução salina, veículo, morfina (8 mg kg^{-1}) e extratos (10, 50 e 100 mg kg^{-1}). Neste modelo, o animal foi imobilizado dentro de um recipiente cilíndrico e a cauda foi imersa (aproximadamente 2 cm) em banho-maria com água aquecida a uma temperatura de 50 ± 1 °C. Mediu-se o tempo (em segundos) em que o animal demorou a retirar a cauda de dentro da água, tempo este chamado de “tempo de latência”. Foram feitas oito medidas dos tempos de latência com intervalos de 20 min entre cada uma delas. As primeiras duas medidas foram realizadas antes da administração dos tratamentos (foram chamadas de medidas controle). A média das medidas controle foi denominada “linha de base”. Para se evitar danos teciduais causados pela temperatura na cauda dos animais, calculou-se um “cut-off” de 3 vezes o valor da linha de base. Os resultados foram expressos como percentual de aumento em relação à linha de base, de acordo com a fórmula (1):

$$\left(\frac{\text{Aumento da linha}}{\text{de base}} \right) = \frac{(100 - \text{TL})}{\text{LB}} \times 100 \quad (1)$$

onde: TL = Tempo de latência; LB = Linha de base

Antagonistas como: naloxona (antagonista não-seletivo opioide; 5 mg kg^{-1}), glibenclamida (bloqueador de canal de potássio sensível a ATP; 1 mg kg^{-1}), L-Arginina (precursor na síntese de óxido nítrico; 3 mg kg^{-1}) e N-nitro-arginina-L-metil éster (L-NAME - inibidor não-seletivo da óxido nítrico sintase; 3 mg kg^{-1}) foram administrados por via intraperitoneal, 15 min antes do tratamento oral dos extratos, no modelo de retirada de cauda, com a finalidade

de avaliar a participação de diferentes sistemas sobre a atividade dos extratos.

2.5.4. Modelo do campo aberto

O procedimento foi similar ao descrito por Barros e cols., 1991.²⁵ Os camundongos receberam solução salina, veículo, morfina (8 mg kg⁻¹) e extratos (10, 50 e 100 mg kg⁻¹) por via oral e foram colocados individualmente em uma câmara de observação (60 min após administração oral) cujo assoalho foi dividido em quadrados (5 x 5 cm). O número total de quadrados percorridos durante o período de 5 min foi contado. A atividade espontânea foi quantificada pelo número de quadrados percorridos durante o intervalo de 5 min.

2.5.5. Análise de dados

Os grupos experimentais foram constituídos por 6 animais. Os resultados são apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). A significância estatística entre os grupos foi realizada pela aplicação de análise de variância (One-Way ANOVA) acompanhada pelo teste de Bonferroni para os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético e campo aberto. E foi realizada pela aplicação de análise de variância (Two-Way ANOVA) acompanhada pelo teste de Bonferroni para os testes de retirada de cauda. Os valores de *p* menor que 0,05; 0,01 e 0,001 foram usados como nível de significância.

3. Resultados e Discussão

3.1. Análise fitoquímica preliminar das classes de metabólitos secundários dos extratos hidroalcoólicos das partes aéreas de *M. arboreus* e *H. tiliaceus*

Os extratos brutos em etanol:água (70:30 v/v), após secos, foram obtidos com rendimentos de 11% e 21% para *M. arboreus* e *H. tiliaceus*, respectivamente. Posteriormente, foram obtidos os espectros de infravermelho, ressonância magnética nuclear de hidrogênio, carbono-13 uni e bi-dimensionais.

A análise dos espectros de infravermelho e RMN (1D e 2D) para o extrato hidroalcoólico de *H. tiliaceus* revelam a presença de unidades glicosídicas e fenólicas característicos de flavonóides, corroborando com os relatos da literatura observados para outras espécies.²⁶

Os espectros de infravermelho da espécie *H. tiliaceus* indicaram, resumidamente, a banda de absorção intensa e larga de estiramento em 3240 cm⁻¹ para O-H associado; 2924 e 2854 cm⁻¹ para C-H alifático; 1716 cm⁻¹ para C=O cetônica; 1607 cm⁻¹ para C=C aromático e 1055 cm⁻¹ para éter aromático. A espécie *M. arboreus* no espectro de infravermelho mostrou banda de absorção intensa e larga de estiramento em 3338 cm⁻¹ para O-H associado; 3001 cm⁻¹ para C-H aromático; 2974, 2926 e 2856 cm⁻¹ para C-H alifático; 1620 cm⁻¹ para C=C aromático e 1043 cm⁻¹ para éter aromático (Informações Suplementares S1-S2).

Os espectros de RMN ¹H (1D e COSY) para *H. tiliaceus* revelaram a presença de dois sinais para átomos de hidrogênio localizados no anel A de uma unidade flavonoídica dissubstituída (Figura 2), com a constante acoplamento (*J*) indicando interação spin-spin de hidrogênios mantendo entre si relação *meta* (*J*=2,0 Hz) e correspondendo aos hidrogênios H-6 (δH 6,44 ppm) e H-8 (δH 6,45 ppm). Para o anel B, a análise revelou a presença de sinais característicos de um sistema aromático *para* dissubstituído, sendo, consequentemente, representado por dois dupletos correspondentes aos dois pares de átomos de hidrogênio H-6' (δH 6,71 ppm) e H-5' (δH 7,01 ppm) com *J*=8,0 Hz que evidência interação *orto*; e um singleto largo para H-2' em δH 7,7 ppm que corresponde a interação spin-spin em *meta* com H-6'. Os valores dos deslocamentos químicos e das constantes de acoplamento observadas nos espectros de RMN ¹H (1D e COSY) permitiram propor a localização de funções oxigenadas nas posições 3' e 4' característico do anel B em alguns flavonóides. Grupos hidroxílicos localizados em C-5, envolvidos em ligação de hidrogênio δH 12,13 – 12,94 ppm e, as hidroxilas localizadas em outras posições revelaram-se mais sensíveis aos efeitos de solvente, H₂O presente no solvente e temperatura.

Os flavonóides com anel B dioxigenados podem ser representados por três grupos: um apresentando duas hidroxilas, com δC: 114,92 (CH-2'), 114,19 (CH-5') e 120,78 (CH-6'); uma hidroxila e uma metoxila, com δC: 114,79-115,53 (CH-2'), 110,69-111,26 (CH-5') e 120,34-121,73 (CH-6') e flavonoides com duas metoxilas, com δC: 111,04-111,68 (CH-2'), 110,73-111,26 (CH-5') e 121,72-122,59 (CH-6').²⁶

Os dados obtidos pela técnica HSQC, revelam os sinais correspondentes aos acoplamentos a uma ligação C-H, que o anel B é dissubstituído apresentando uma -OH e uma -OCH₃ (Figura 3). O espectro de HMBC confirma este padrão de substituição (Figura 4). Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C (1D e 2D) estão apresentados nas Informações Suplementares.

A prospecção preliminar das classes de metabólitos secundários para a espécie *M. arboreus* já havia sido realizada anteriormente²⁷ e revelou a presença de compostos da classe das porfirinas formadas por anéis tetra-pirrólicos (Figura 5), também presentes em extratos hidroalcoólicos de outras espécies que apresentaram efeito quelante frente aos íons de ferro.^{28,29} O espectro de RMN de ¹H (Figura 6) apresentou singletos na região de frequência alta δH 8,57 (H-20); 9,40 (H-5) e 9,53 (H-10) referentes a hidrogênios ligados a carbonos sp².

Além disso, o espectro de RMN de hidrogênio revelou os sinais do grupo vinila representado pelos δH em 8,08 (H-3¹, dd), 6,32 e 6,27 (2H-3²), que em conjunto com o experimento bidimensional HSQC, C-3² [δH/δC 6,32 e 6,27 /122,7], C-3¹ [δH/δC 8,08/121,38], C-20 [δH/δC 8,57/93,56], C-5 [δH/δC 9,40/97,83], e C-10 [δH/δC 9,53/104,51], Figura 7, permitiram indicar o sistema heterocíclico de porfirinas.

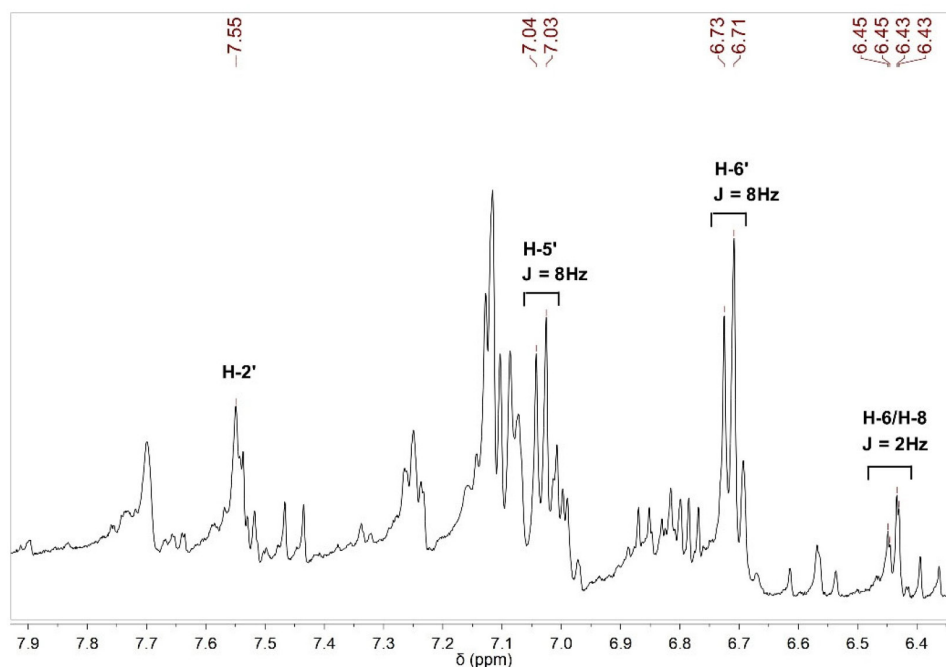


Figura 2. Parte do espectro de RMN de hidrogênio do extrato hidroalcoólico de *Hibiscus tiliaceus*

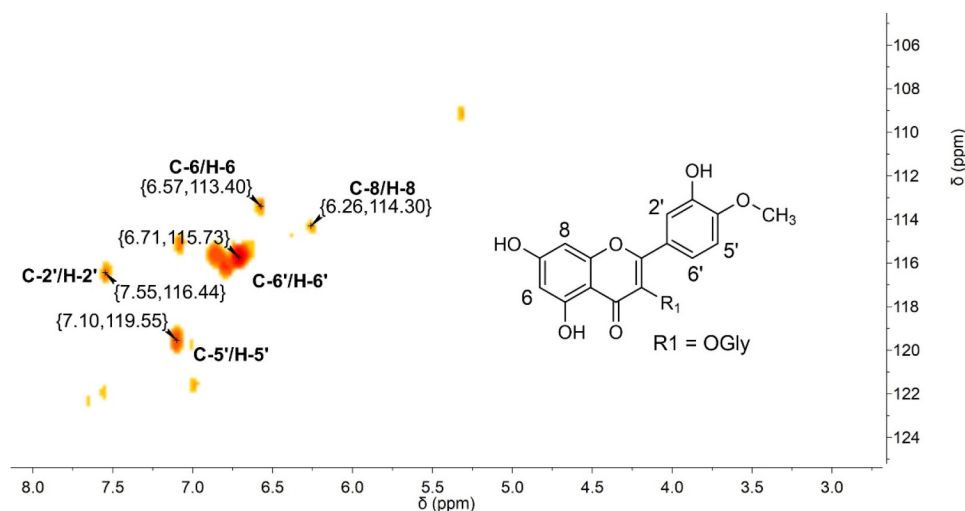


Figura 3. Espectro de RMN 2D (HSQC) para o extrato hidroalcoólico de *Hibiscus tiliaceus*

A avaliação dos conteúdos de fenóis totais e flavonoides totais dos extratos hidroalcoólicos de *H. tiliaceus* foi realizada por espectrofotometria e seus valores determinados em mg g⁻¹ de extrato por ácido gálico, e extrato por quercetina, respectivamente, utilizando curvas de calibração construídas com ácido gálico (R=0,9924) e quercetina (R=0,9968), respectivamente. A tabela 1 mostra os valores obtidos para os flavonoides totais e fenóis totais para o extrato da espécie *H. tiliaceus*, que corroboram com as classes de metabólitos observados por RMN 1D e 2 D.

Relatos na literatura sobre os conteúdos de fenóis e flavonoides totais para extratos das folhas das espécies *H. tiliaceus* e *M. arboreus* nas condições deste estudo, ou seja, em etanol:água 70:30 v/v, não foram observados. No entanto para outras espécies da família Malvaceae como

Hibiscus sabdariffa em extrato de metanol observou-se o conteúdo de fenóis totais de 389,98 mg g⁻¹ de ácido gálico e 104,52 mg g⁻¹ de quercetina.³⁰ Interessante destacar que no plantio dessas espécies havia sido adicionado o adubo orgânico Organosuper® e, mesmo assim os valores dos teores de fenóis e flavonoides totais ficaram menores do que os observados para a espécie *H. tiliaceus*. O extrato aquoso da espécie *H. acetocella* (Malvaceae) apresentou o valor de flavonoides totais de 775 mg por 100 g de peso seco e 975 mg por 100 g de peso seco, indicando, também valores importantes.³¹ Além disso, Kapoor e colaboradores em revisão sobre o gênero *Hibiscus* destacou que o extrato aquoso da espécie *H. tiliaceus* apresentava a presença de flavonoides glicosilados e no extrato em metanol flavonoides livres.³²

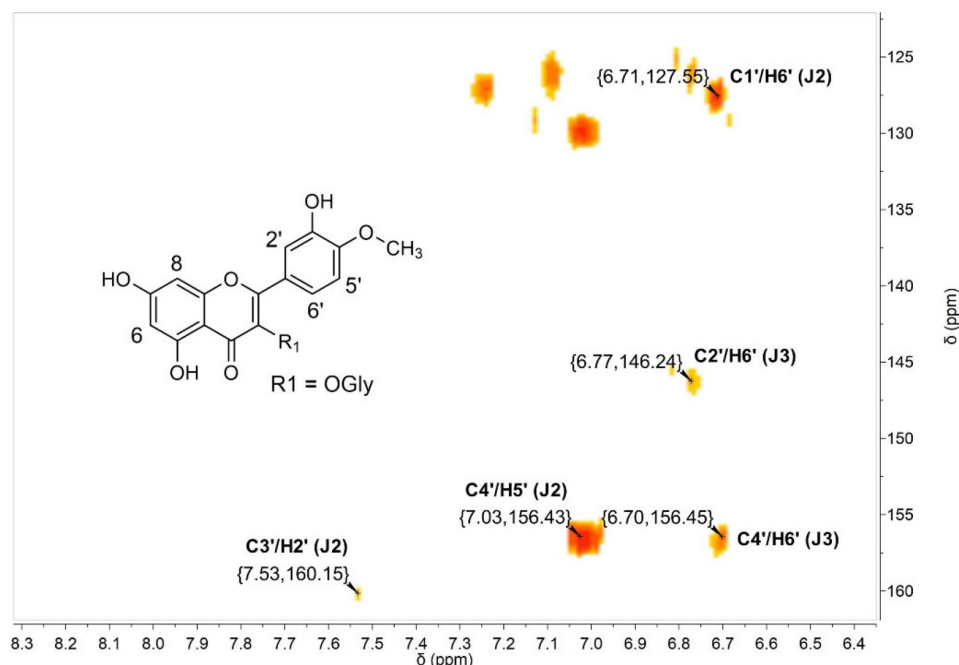


Figura 4. Espectro de RMN 2D (HMBC) para o extrato hidroalcoólico de *Hibiscus tiliaceus*

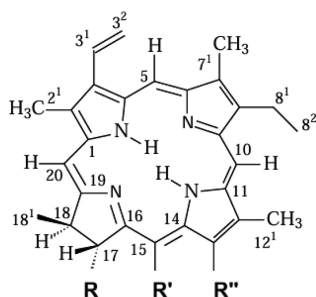


Figura 5. Núcleo porfirínico formado por anéis tetra-pirrólicos observado no extrato bruto de *Malvaviscus arboreus* obtido em etanol:água (70:30, v/v)

A avaliação preliminar das classes de metabólitos por RMN 1D e 2D do extrato hidroalcoólico da espécie *M. arboreus* indicou a presença de compostos da classe das porfirinas. A literatura registra que espécies vegetais contendo substâncias dessa classe apresentam atividade antioxidante e, em artigo de revisão recente³³ essa atividade é atribuída especialmente a presença de clorofila e clorofilina. No entanto, apesar do potencial de atividade antioxidante das clorofilas naturais, a pesquisa nesta área tem sido relativamente limitada nos últimos anos.

Assim, devido ao potencial de atividade antioxidante tanto da espécie *H. tiliaceus* devido a presença de fenóis e flavonoides como da espécie *M. arboreus* com a presença de substâncias da classe das porfirinas, os efeitos biológicos como antinociceptivo e anti-inflamatório foram avaliados.

3.2. Ensaios biológicos

Para avaliação nociceptiva a partir de estímulo químico periférico foi utilizado o modelo de contorções abdominais

induzidos por ácido acético, onde o agente químico induz a liberação de diversos mediadores inflamatórios, tais como: PGE2, PGF2 α , PGI2, TNF- α , IL-1 β , bem como produtos da lipoxigenase, causando uma peritonite com consequente dor abdominal e contorções abdominais por parte dos animais.³⁴ Neste contexto, os extratos hidroetanólicos de *H. tiliaceus* e *M. arboreus* foram capazes de reduzir o número de contorções abdominais em 61,9% e 74,2% com *H. tiliaceus* nas doses de 50 e 100 mg kg⁻¹, respectivamente; enquanto com *M. arboreus* reduziu o número de contorções abdominais em 67,4% e 69,0% com as doses de 50 e 100 mg kg⁻¹, respectivamente. A morfina apresentou uma redução de 66,9% no número de contorções (Figura 8).

Estes resultados mostram que ambos os extratos desenvolveram atividade antinociceptiva nas maiores doses usadas, porém o modelo não é capaz de discriminar o efeito sobre a dor inflamatória e não -inflamatória, sendo o mesmo utilizado para triagem de extratos e moléculas potencialmente analgésicas devido a sua alta sensibilidade.³⁵

Relato na literatura mostrou a atividade antinociceptiva para os extratos das folhas de *H. tiliaceus* em metanol, éter de petróleo e clorofórmo em ensaios no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético indicando efeito significativo nas doses de 250 e 500 mg kg⁻¹. Esses efeitos tiveram um aumento em função da maior polaridade do solvente de extração éter de petróleo < cloroformio < metanol.³⁶ Posteriormente, o extrato das folhas em etanol no mesmo modelo mostrou 40,5% de inibição das contorções na dose de 500 mg kg⁻¹.³⁷ Nossos resultados estão de acordo, utilizando o mesmo modelo, com um melhor efeito da atividade antinociceptiva em menores doses, 10, 50 e 100 mg kg⁻¹, devido a maior polaridade do solvente

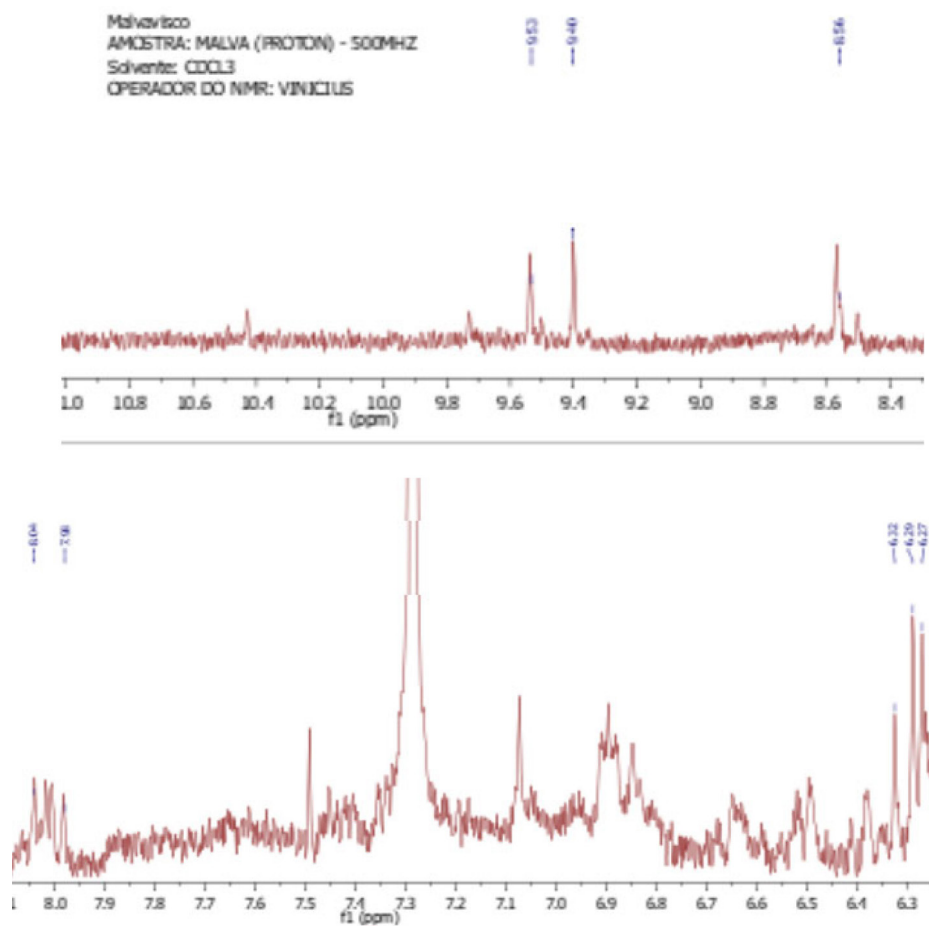


Figura 6. Expansões do espectro de RMN de hidrogênio do extrato bruto de *Malvaviscus arboreus* obtido em etanol:água (70:30, v/v)

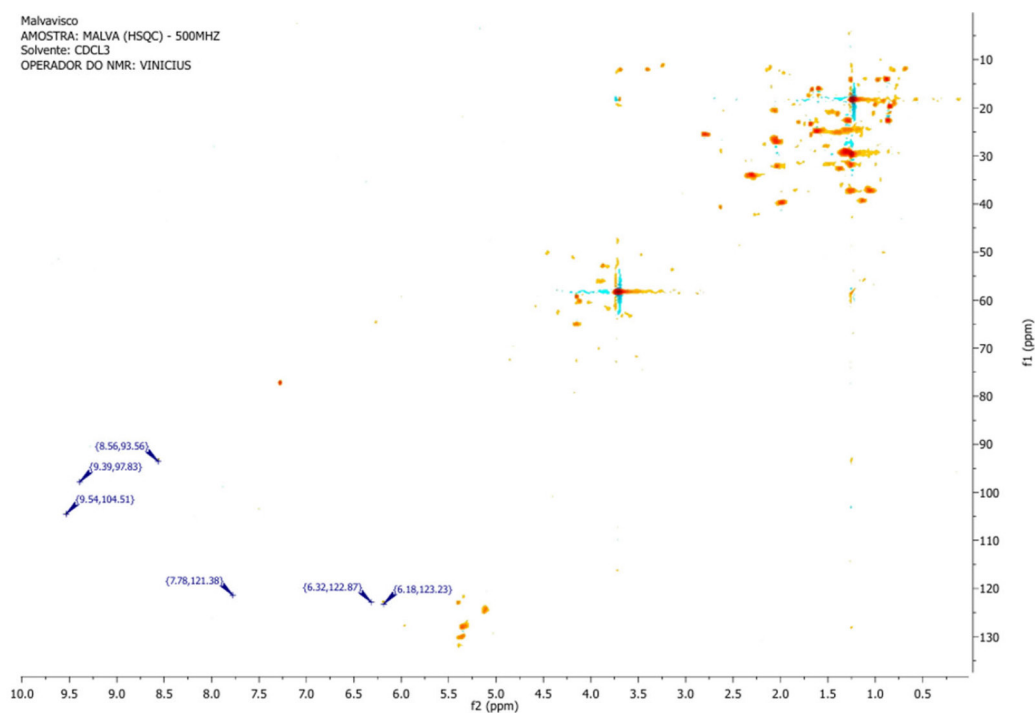


Figura 7. Expansão da região de deslocamento químico de δ H 8,5-6,0 ppm e (400 MHz, CDCl_3) e Mapa de contornos HSQC (100 MHz, CDCl_3) do extrato bruto de *Malvaviscus arboreus* obtido em etanol:água (70:30, v/v)

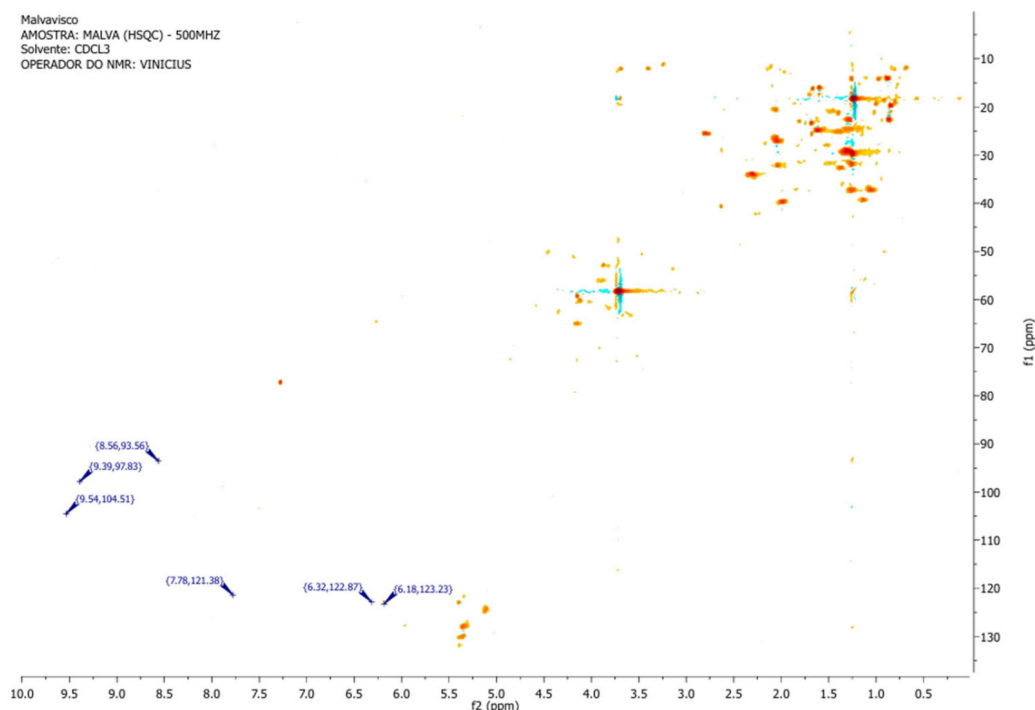


Figura 7. Expansão da região de deslocamento químico de δH 8,5-6,0 ppm e (400 MHz, CDCl₃) e Mapa de contornos HSQC (100 MHz, CDCl₃) do extrato bruto de *Malvaviscus arboreus* obtido em etanol:água (70:30, v/v)

Tabela 1. Totais de fenóis e flavonoides no extrato etanol:água (70:30, v/v) de *Hibiscus tiliaceus*. Os valores são representados por médias de mg g⁻¹ de extrato seguido pelo desvio padrão das amostras

Espécie Vegetal	Fenóis Totais mg g ⁻¹ de Ácido Gálico	Flavonoides Totais mg g ⁻¹ de Quercetina
<i>H. tiliaceus</i>	807,14 ± 8,89	518,08 ± 3,32

de extração etanol:água (30:70, v/v), conforme pode ser observado na Figura 8.

Com o objetivo de avaliar os extratos em modelo de dor não-inflamatória, o modelo de retirada de cauda foi realizado. Este modelo algesimétrico visa, através de estímulo térmico, ativar o mecanismo neural de arco reflexo, desta forma envolvendo estruturas neurais espinais sem participação de mediadores inflamatórios.³⁸

Neste modelo, o extrato de *H. tiliaceus* demonstrou

efeito somente na dose de 100 mg kg⁻¹, mostrando elevação significativa no percentual de aumento do tempo de latência a partir do tempo de 40 min permanecendo até o final do experimento; enquanto *M. arboreus* demonstrou efeito com todas as doses administradas de forma dose-dependente (Figura 9). A morfina apresentou atividade antinociceptiva neste modelo a partir do tempo de 80 min justificada pelo fato da morfina, quando administrada por via oral, sofrer intenso metabolismo hepático de primeira passagem podendo ter um alto percentual da sua biodisponibilidade reduzida.³⁹

Com a administração prévia de agentes antagonistas e inibidores, foi observada redução significativa do efeito do extrato de *H. tiliaceus* com a administração prévia de L-NAME e glibenclamida, evidenciando que a inibição da enzima NO-sintase e o bloqueio do canal de K⁺ regulado por ATP, respectivamente, foram capazes de inibir o efeito antinociceptivo do extrato (Figuras 9A e 9B). Já o extrato

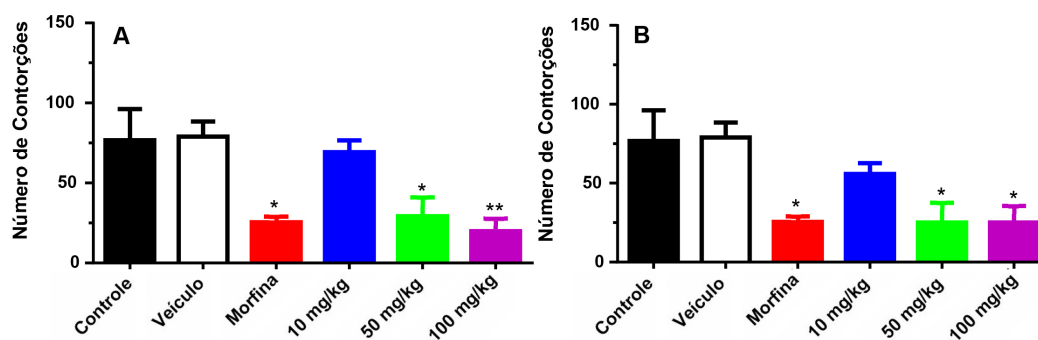


Figura 8. Efeito antinociceptivo dos extratos em etanol:água de (A) *H. tiliaceus* e (B) *M. arboreus* no modelo de contorções abdominais induzidos por ácido acético. *p<0,05 e **p<0,01 quando comparado o grupo controle com os demais grupos

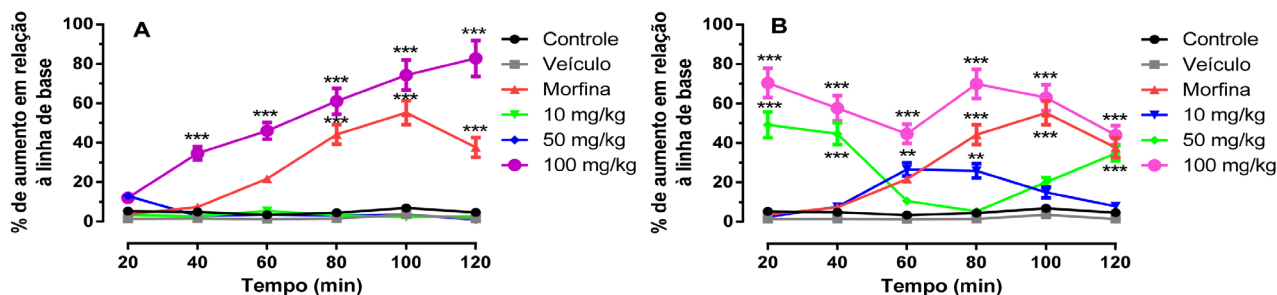


Figura 9. Efeito antinociceptivo dos extratos em etanol:água de (A) *H. tiliaceus* e (B) *M. arboreus* no modelo de retirada de cauda. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado o grupo controle com os demais grupos

de *M. arboreus* teve seu efeito reduzido pela administração prévia dos mesmos antagonistas que *H. tiliaceus*, além da naloxona, demonstrando também a participação do sistema opioide na atividade de *M. arboreus* (Figuras 10C e 10D).

Dessa forma os resultados mostram um provável envolvimento da via NO/GMPc/K⁺ATP, onde o aumento nos níveis de óxido nítrico (NO) neuronal é responsável pela ativação da enzima guanilato ciclase, que por sua vez converte GTP em GMP cíclico (GMPc), e este último ativa a enzima quinase G. A enzima quinase G é responsável pela fosforilação de canais de K⁺, levando a abertura e efluxo de

íons K⁺, induzindo hiperpolarização da membrana neuronal, inibindo assim a condução do impulso nervoso responsável pela percepção de dor.⁴⁰

A analgesia induzida por morfina e nitroprussiato de sódio (doador de óxido nítrico) têm demonstrado envolvimento com abertura de canais de K⁺ pela ativação da via NO/GMPc.⁴¹ Estudos farmacológicos sugerem associação da via NO/GMPc/K⁺ATP como um mecanismo de analgesia opioide.⁴² Sendo assim, acreditamos que moléculas presentes nos extratos de *H. tiliaceus* e *M. arboreus* sejam capazes de promover analgesia a nível

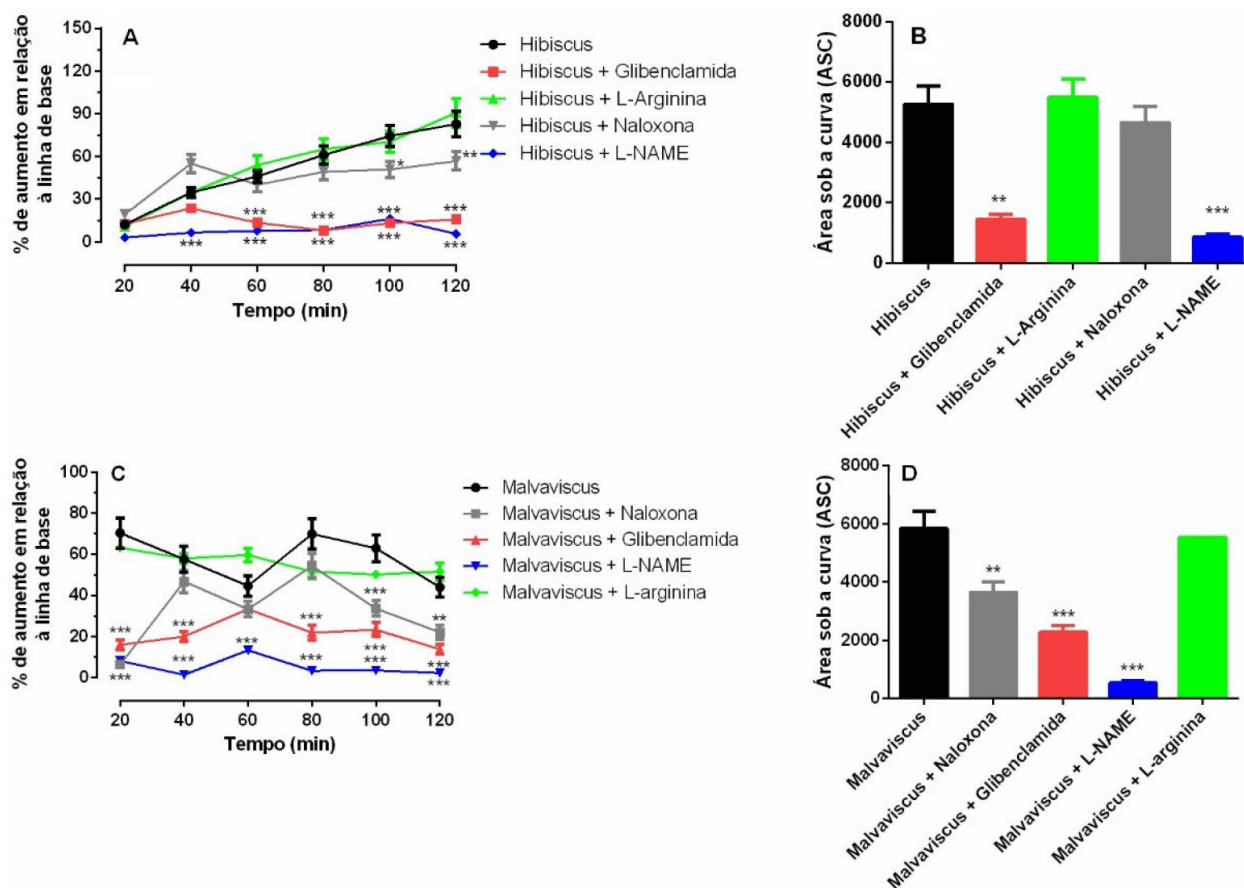


Figura 10. Influência da administração prévia de naloxona, glibenclamida, L-NAME e L-arginina sobre o efeito antinociceptivo dos extratos em etanol:água de (A e B) *H. tiliaceus* e (C e D) *M. arboreus* no modelo de retirada de cauda. Em A e C, os animais foram pré-tratados intraperitonealmente com naloxona (5 mg/kg), glibenclamida (1 mg/kg), L-NAME (3 mg/kg) e L-arginina (3 mg/kg) 15 min antes da administração oral dos extratos. Em B e D, o gráfico representa a área sob a curva calculada através da área de cada curva tempo-efeito no modelo de retirada de cauda. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado o grupo tratado isoladamente com os extratos com os grupos tratados com os extratos + antagonistas

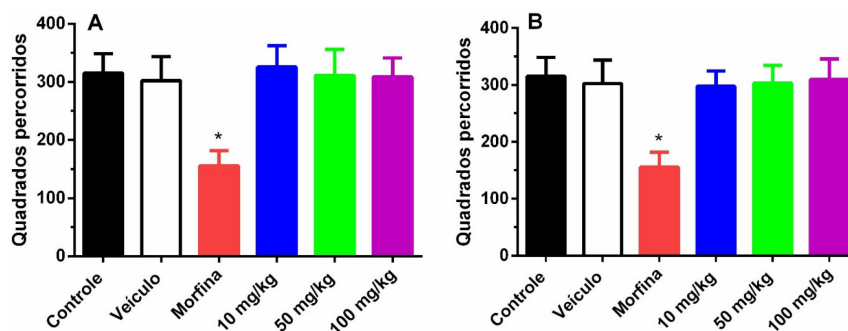


Figura 11. Efeito antinociceptivo dos extratos em etanol:água de (A) *H. tiliaceus* e (B) *M. arboreus* no modelo de campo aberto. * $p < 0,05$ quando comparado o grupo controle com os demais grupos

neuronal a partir de ativação da via NO/GMPc/K⁺ATP.

Como os modelos algesimétricos utilizados envolvem resposta motora frente a estímulos nocivos, torna-se fundamental avaliar a interferência do comprometimento motor sobre a resposta obtida nestes modelos.⁴³ Sendo assim, o modelo de campo aberto foi utilizado para observar a mobilidade dos animais, e assim ausência ou presença de comprometimento motor pelo uso dos extratos. Desta forma, os resultados obtidos evidenciaram ausência de interferência na locomoção dos animais, confirmando que a resposta alcançada nos modelos algesimétricos são causados efetivamente pela ação antinociceptiva dos extratos (Figura 11). Somente a morfina, através de sua atividade hipnótica, foi capaz de reduzir o número de quadrados percorridos em 50,7%.

4. Conclusão

Os extratos hidroalcoólicos de *H. tiliaceus* e *M. arboreus* apresentaram, em análise preliminar, a presença de metabólitos secundários da classe dos fenóis e flavonoides, e de porfirinas, respectivamente, confirmada por RMN 1D e 2D. Quanto à sua atividade farmacológica, os mesmos apresentaram atividade antinociceptiva significativa em modelos de estimulação química e térmica, demonstrando envolvimento da via NO/GMPc/K⁺ATP a nível neuronal periférico, espinal e/ou supra espinal, carecendo de futuros estudos para aprofundamento de seus mecanismos e avaliação de sua segurança.

Informações Suplementares

As Informações Suplementares estão disponíveis gratuitamente em <https://rvq.sbq.org.br/pdf/AR2025-5004-MS>.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, FAPERJ, e CAPES pelo suporte financeiro e bolsas de estudo e pesquisa. Além disso,

agradecem a Dra. Eliane de Lima Jacques do Departamento de Botânica da UFRRJ pela identificação das espécies.

Referências Bibliográficas

- Bernardini, S.; Tiezzi, A.; Masci, V. L.; Ovidi, E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Natural Product Research* **2017**, *32*, 1926. [Crossref] [PubMed]
- Mendonça, V. M.; Santos, M. J. C.; Moreira, F. V.; Silva-Mann, R.; Ribeiro, M. J. B. Traditional phytotherapy and integration and complementary practices in the health systems of Brazil. *Temas em Saúde* **2018**, *18*, 66. [Link]
- Cherobin, F.; Buffon, M. M.; de Carvalho, D. S.; Yanna D. Rattmann, Y. D. Plantas medicinais e políticas públicas de saúde: novos olhares sobre antigas práticas. *Physis: Revista de Saúde Coletiva* **2022**, *32*, e320306. [Crossref]
- Mccurdy, C. R.; SCULLY, S. S.; Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals). *Life Sciences* **2005**, *78*, 476. [Crossref] [PubMed]
- Uritu, C. M.; Mihai, C. T.; Stanciu, G.; Dodi, G.; Alexa-Stratulat, T.; Luca, A.; Constantin, L. M.; Stefanescu, R.; Bild, V.; Melnic, S.; Tamba, B. I. Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: a review. *Pain Research and Management* **2018**, ID7801543. [Crossref] [PubMed]
- Karrat L.; Abajy, M. Y.; Nayal, R. Investigating the anti-inflammatory and analgesic properties of leaves ethanolic extracts of *Cedrus libani* and *Pinus brutia*. *Heliyon* **2022**, *8*, e09254. [Crossref] [PubMed]
- Balunas, M. J.; Kinghorn, A. D. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences* **2005**, *78*, 431. [Crossref] [PubMed]
- Calixto, J. B.; Scheidt, C.; Otuki, M.; Santos, A. R. Biological activity of plant extracts: novel analgesic drugs. *Expert Opinion on Emerging Drugs* **2001**, *6*, 261. [Crossref] [PubMed]
- Das, U.; Islam, Md. S. A review study on different plants in the Malvaceae family and their medicinal uses. *American Journal of Biomedical Science & Research* **2019**, *3*, 94. [Crossref]
- Christenhusz, M. J. M.; Byng, J. W. The number of known plant species in the world and its annual increase. *Phytotaxa* **2016**, *261*, 201. [Crossref]
- Oliveira, A. M. F.; Pinheiro, L. S.; Pereira, C. K. S.; Matias, W. N.; Gomes, R. A.; Chaves, O. S.; Souza, M. F. V.; Almeida, R.

- N.; Assis, T. S. Total phenolic content and antioxidant activity of some Malvaceae family species. *Antioxidants* **2012**, *1*, 33. [Crossref]
12. Valbon, A.; Ribeiro, B. F.; Soares, M. A. F.; Oliveira, M. C. C.; Neves, M. A.; Echevarria, A. Extrato de *Hibisco-colibri* como inibidor verde de corrosão do aço-carbono em ácido sulfúrico. *Química Nova* **2019**, *42*, 797. [Crossref]
13. Lowry, J. B. Floral anthocyanins of some Malaysian *Hibiscus* species. *Phytochemistry* **1976**, *15*, 1395. [Crossref]
14. Adassi, M. B.; Ngoupaye, G. T.; Yassi, F. B.; Foutsop, A. F.; Kom, T. D.; Elisabeth Ngo Bum, E. N. Revealing the most effective anticonvulsant part of *Malvaviscus arboreus* Dill. Ex Cav. and its acute and sub-acute toxicity. *Journal of Ethnopharmacology* **2023**, *303*, 115995. [Crossref] [PubMed]
15. Campos-Vidal, Y.; Herrera-Ruiz, M.; Trejo-Tapia, G.; Gonzalez-Cortazar, M.; Aparicio, A. J.; Zamilpa, A. Gastroprotective activity of kaempferol glycosides from *Malvaviscus arboreus* Cav. *Journal of Ethnopharmacology* **2021**, *268*, 113633. [Crossref] [PubMed]
16. Silva, K. A.; Uekane, T. M.; Miranda, J. F.; Ruiz, L. F.; Motta, J. C. B.; Silva, C. B.; Pitangui, N. S.; Gonzalez, A. G. M.; Fernandes, F. F.; Lima, A. R. Kombucha beverage from non-conventional edible plant infusion and green tea: Characterization, toxicity, antioxidant activities and antimicrobial properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* **2021**, *34*, 102032. [Crossref]
17. Feng, M.; Zhang, M.; Adhikari, B.; Chang, L. Novel strategies for enhancing quality stability of edible flower during processing using efficient physical fields: a review. *Food Chemistry* **2024**, *448*, 139077. [Crossref] [PubMed]
18. Lim, W. Y.; Chan, E. W. C.; Phan, C. W.; Wong, C. W. Potent melanogenesis inhibition by friedelin isolated from *Hibiscus tiliaceus* leaves. *European Journal of Integrative Medicine* **2022**, *55*, 102181. [Crossref]
19. Matsumoto, T.; Imahori, D.; Achiwa, K.; Saito, Y.; Ohta, T.; Yoshida, T.; Kojima, N.; Yamashita, M.; Nakayama, Y.; Watanabe, T. Chemical structures and cytotoxic activities of the constituents isolated from *Hibiscus tiliaceus*. *Fitoterapia* **2020**, *142*, 104524. [Crossref] [PubMed]
20. Chen, D.-L.; Ma, G.-X.; Yang, E.-L.; Yang, Y.; Wang, C.-H.; Sun, Z.-C.; Liang, H.-Q.; Xu, X.-D.; Wei, J.-H. Cadinane-type sesquiterpenoid dimeric diastereomers hibisceusones A-C from infected stems of *Hibiscus tiliaceus* with cytotoxic activity against triple-negative breast cancer cells. *Bioorganic Chemistry* **2022**, *127*, 105982. [Crossref] [PubMed]
21. Megías, C.; Pastor-Cavada, E.; Torres-Fuentes, C.; Girón-Calle, J.; Alaiz, M.; Juan, R.; Pastor, J.; Vioque, J. Chelating, antioxidant and antiproliferative activity of *Vicia sativa* polyphenol extracts. *European Food Research and Technology* **2009**, *230*, 353. [Crossref]
22. Neves, L. C.; Alencar, S. M.; Carpes, S. T. Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. *Brazilian Journal of Food Technology* **2009**, *VII* BMCFB, 107. [Link]
23. Chowdhury, Md. I. A.; Debnath, M.; Ahmad, Md. F.; Alam, M. N.; Saleh, A. M.; Chowdhury, S.; Barua, R.; Mazumdar, M. M. U.; Kamal, A. H. M. Potential phytochemical, analgesic and anticancerous activity of *Cymbopogon citratus* leaf. *American Journal of Biomedical Research* **2015**, *3*, 66. [Crossref]
24. Adams, S. S. Analgesic-antipyretics. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **1960**, *12*, 251. [Crossref] [PubMed]
25. Barros, H. M.; Tannhauser, M. A.; Tannhauser, S. L.; Tannhauser, M. Enhanced detection of hyperactivity after drug withdrawal with a simple modification of the open-field apparatus. *Journal of Pharmacological Methods* **1991**, *26*, 269. [Crossref] [PubMed]
26. Silva, T. M. S.; Carvalho, M. G.; Braz-Filho, R. Estudo espectroscópico em elucidação estrutural de flavonoides de *Solanum jabrense* Agra & Nee e *S. paludosum* Moric. *Química Nova* **2009**, *22*, 1119. [Crossref]
27. Valbona, A.; Ribeiro, B. F.; Soares, M. A. F.; Oliveira, M. C. C.; Neves, M. A.; Echevarria, A. Extrato de hibisco-colibri como inibidor verde de corrosão do aço-carbono em ácido sulfúrico. *Química Nova* **2019**, *42*, 797. [Crossref]
28. de Albuquerque, M. A.; Goulart, C. M.; Amorim, A. P. O.; de Oliveira, M. C. C.; Echevarria, A. Novas formulações de tiossemicarbazonas e extrato vegetal de *Talinum triangulare* com potencial atividade anticorrosão. *Revista Virtual de Química* **2013**, *5*, 734. [Crossref]
29. Amorim, A. P. O.; de Oliveira, M. C. C.; Amorim, T. A.; Echevarria, A. Antioxidant, iron chelating and tyrosinase inhibitory activities of extracts from *Talinum triangulare* Leach stem. *Antioxidants* **2013**, *2*, 90. [Crossref] [PubMed]
30. Formagio, A. S. N.; Ramos, D. D.; Vieira, M. C.; Ramalho, S. R.; Silva, M. M.; Zárate, N. A. H.; Foglio, M. A.; Carvalho, J. E. Phenolic compounds of *Hibiscus sabdariffa* and influence of organic residues on its antioxidant and antitumoral properties. *Brazilian Journal of Biology* **2015**, *75*, 69. [Crossref] [PubMed]
31. Tsumbu, C. N.; Deby-Dupont, G.; Tits, M.; Angenot, L.; Frederich, M.; Kohnen, S.; Mouithys-Mickalad, A.; Serteyn, D.; Franck, T. Polyphenol content and modulatory activities of some tropical dietary plant extracts on the oxidant activities of neutrophils and myeloperoxidase. *International Journal of Molecular Sciences* **2012**, *13*, 628. [Crossref] [PubMed]
32. Kapoor, M.; Kaur, G.; Sharma, C.; Batra, K.; Singh, D. The traditional uses, phytochemistry and pharmacology of genus *Hibiscus*: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, *32*, 1. [Crossref]
33. Martins, T.; Barros, A. N.; Ros, E.; Antunes, L. Enhancing health benefits through chlorophylls and chlorophyll-rich aro-food: A comprehensive review. *Molecules* **2023**, *28*, 5344. [Crossref]
34. Khakpour Taleghani, B.; Ghaderi, B.; Rostampour, M.; Fekjur, E. M.; Hasannejad, F.; Ansar, M. M. Involvement of opioidergic and GABAergic systems in the anti-nociceptive activity of the methanolic extract of *Cuscuta Epithymum* Murr. in mice. *Journal of Ethnopharmacology* **2021**, *273*, 113826. [Crossref] [PubMed]
35. Pacheco, A. G. M.; Pacheco, E. J.; Macedo, L. A. R. O.; Silva, J. C.; Lima-Saraiva, S. R. G.; Barros, V. P.; Oliveira-Junior, R. G.; Branco, A.; Quintans, J. S. S.; Quintans-Junior, L. J.; Coutinho, H. D. M.; Menezes, I. R. A.; Almeida, J. R. G. S. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae) in mice. *Brazilian Journal of Biology* **2022**, *82*, e240359. [Crossref] [PubMed]

36. Narender; Kumar, S.; Kumar, D.; Kumar, V. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Hibiscus tiliaceus* leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* **2009**, *1*, 15. [[Link](#)]
37. Abdu-Awal, S. M.; Nazmir, S.; Nasrin, S.; Nurunnabi, T. R.; Uddin, S. J. Evaluation of pharmacological activity of *Hibiscus tiliaceus*. *Springer Plus* **2016**, *5*, 1209. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. Bannon, A. W.; Malmberg, A. B. Models of nociception: hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Current Protocols in Neuroscience* **2007**, Oct; Chapter 8: Unit 8.9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Baltieri, D. A.; Strain, E. C.; Dias, J. C.; Scivoletto, S.; Malbergier, A.; Nicastri, S.; Jerônimo, C.; Andrade, A. G. Brazilian guideline for the treatment of patients with opioids dependence syndrome. *Revista Brasileira de Psiquiatria* **2004**, *26*, 259. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
40. Assreuy, A. M. S.; Amorim, R. M. F.; Martins, S. L.; Martins, M. G. Q.; Cajazeiras, J. B.; da Silva, M. T. L.; Pires, A. F.; Nascimento, K. S.; Cavada, B. S.; Mota, M. R. L. Antinociceptive effect of *Lonchocarpus araripensis* lectin: activation of L-arginine/NO/cGMP/K(+)ATP signaling pathway. *Inflammopharmacology* **2020**, *28*, 1623. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Alves, D.; Duarte, I. D. Involvement of ATP-sensitive K(+) channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyrone. *European Journal of Pharmacology* **2002**, *444*, 47. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
42. Cury, Y.; Picolo, G.; Gutierrez, V. P.; Ferreira, S. H. Pain and analgesia: The dual effect of nitric oxide in the nociceptive system. *Nitric Oxide* **2011**, *25*, 243. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Soja, P. J.; Taepavarapruk, N.; Pang, W.; Cairns, B. E.; Mcerlane, S. A.; Fragoso, M. C. Transmission through the dorsal spinocerebellar and spinoreticular tracts: wakefulness versus thiopental anesthesia. *Anesthesiology* **2002**, *97*, 1178. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]