



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

DANILO MACIEL CARNEIRO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DIURÉTICA E SEGURANÇA DO
USO DA ***EQUISETUM ARVENSE L. (CAVALINHA)*** EM
HUMANOS SAUDÁVEIS

GOIÂNIA
2012

DANILO MACIEL CARNEIRO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DIURÉTICA E SEGURANÇA DO
USO DA *EQUISETUM ARVENSE* L. (CAVALINHA) EM
HUMANOS SAUDÁVEIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo César Brandão Veiga Jardim

GOIÂNIA
2012

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

**BANCA EXAMINADORA
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Aluno: Danilo Maciel Carneiro

Orientador(a): Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha

Co-Orientador(a): Prof. Dr. Paulo César Brandão Veiga Jardim

Membros:

1º Membro

Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha - **Presidente**
Universidade Federal de Goiás – Faculdade de Farmácia

2º Membro

Prof. Dr. Nilzio Antônio da Silva
Universidade Federal de Goiás – Faculdade de Medicina

3º Membro

Profa. Dra. Leonice Manrique Faustino Tresvenzol
Universidade Federal de Goiás – Faculdade de Farmácia

4º Membro

Prof. Dr. Ivan José Maciel
Universidade Federal de Goiás - IPTSP

5º Membro

Prof. Dr. Paulo César Brandão da Veiga Jardim
Universidade Federal de Goiás – Faculdade de Medicina

*Aos voluntários que participaram desse estudo,
por sua dedicação à ciência e à humanidade
ao emprestarem humildemente o seu organismo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força e luz em todos os momentos que requerem superação e persistência.

À minha esposa, Renata Carneiro, cujo apoio deu-me confiança e tranquilidade para conduzir os esforços necessários à realização dessa nobre tarefa; aos nossos filhos queridos, Danilo Filho, Lucas Maciel e Diogo Maciel que, além da inspiração, apoiaram-me com paciência apesar dos momentos de ausência para dedicar-me ao trabalho.

Aos meus pais, Maciel Carneiro (*in memorian*) e Tilza Mendes Carneiro, que se dedicaram com amor e responsabilidade exemplares para proporcionar aos filhos educação e formação para vida. Todos os méritos desse trabalho passam por vocês.

À minha estimada amiga e mentora Profa. Dra. Leonice Manrique Faustino Tresvenzol, que me fez reconhecer a importância da Pós-Graduação em minha formação pessoal e profissional e abriu-me portas para trilhar esse caminho.

À minha estimada amiga, Profa. Dra. Renata Mazaro e Costa, que traçou as primeiras linhas da metodologia que deu origem a esse experimento e esteve sempre pronta para colaborar ao longo do seu desenvolvimento.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha, que não mediu esforços e colocou sua força de trabalho e de articulação para conseguir os apoios e parcerias que tornar possível esse projeto. Seu conhecimento e seu grande valor humano foram decisivos para o bom andamento do trabalho em todas as suas etapas.

Ao meu Co-orientador e eterno Mestre, Prof. Dr. Paulo César Brandão da Veiga Jardim, pela honra de ser mais um entre os milhares de alunos que tiveram suas carreiras iluminadas pela sua sabedoria.

Aos diretores do Hospital de Medicina Alternativa, Dr. Nestor Carvalho, Dr. Fausto Pofahl e Ailton Bezerra, pelos esforços que tornaram possíveis a minha liberação e dedicação às atividades do programa de Pós-Graduação e à realização dos trabalhos de pesquisa.

Aos estimados amigos e colaboradores no NEPET-UFG, Ramias Calixto Freire, Tereza Cristina de Deus Honório e Iuri Zoghaib, pela decisiva participação na fase experimental da pesquisa. Aos amigos Nádyla Zanon Gonçalves e Marcelo Elias Pereira pela contribuição intelectual na revisão de literatura.

À Profa. Dra. Maria Tereza Bara, pela importante participação como Suplente na Banca de Qualificação e especialmente pela análise do material usado no experimento.

À estatística Andreia Pereira Dias de Freitas, que foi além do esperado para atender à complexidade da análise dos dados clínicos deste trabalho e com isto elucidou os resultados com a maior clareza possível.

Aos diretores do ICF, especialmente o Dr. Leonardo Teixeira e Fabiana Fernandes, que abriram as portas desse importante instituto para a realização da fase experimental do projeto; aos Gerentes Weidson Carlo, que indicou os caminhos para o tratamento estatístico dos dados e Dra. Fernanda Cruvinel, que coordenou os trabalhos da etapa clínica; de forma especial também às colaboradoras, Dra. Josianny Mesquita e Fernanda Ribeiro, cuja colaboração foi indispensável no recrutamento, treinamento e acompanhamento dos voluntários durante a fase experimental da pesquisa.

Ao todos os professores, à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e aos funcionários da Universidade Federal de Goiás por abrirem as portas do mundo acadêmico, especialmente, Valdecina Quirino e Raquel Vargas, pelo sempre presente apoio e constante simpatia diante das dúvidas dos alunos.

Finalmente, agradeço à FAPEG pelo apoio financeiro.

*“A ciência sem a religião é manca;
A religião sem a ciência é cega”
Albert Einstein*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	16
1.2 Fisiologia Renal e Diuréticos.....	20
1.3 Equisetum Arvense	22
2 OBJETIVOS.....	25
2.1 Objetivo Geral	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Estudo Teórico – Revisão de Literatura	26
3.2 Estudo Experimental	36
3.2.1 Desenho Experimental	36
3.2.2 Materiais de Estudo.....	36
3.2.3 A Determinação do n.....	36
3.2.4 Seleção de Voluntários	37
3.2.5 Critérios de Inclusão e Exclusão	37
3.2.6 Randomização dos Voluntários.....	38
3.2.7 Protocolo Experimental	38
3.2.8 Intervenções.....	39
3.2.9 Dispensação das Cápsulas.....	40
3.2.10 Divisão dos dias das Etapas de Experimento	40
3.2.11 Atividades Durante a Fase Experimental	41
3.2.12 Avaliações Médicas e Prescrição da Intervenção:	42
3.2.13 Exames Laboratoriais.....	43
3.2.14 Avaliação do Efeito Diurético	43
3.2.15 O Balanço Hídrico (BH).....	43
3.2.16 Medida de Líquidos Ingeridos e Urinados	44
3.2.17 Avaliação da Segurança de Uso	44
3.2.17.1 Relato de eventos adversos	44
3.2.17.2 Segurança de Uso x Toxicidade.....	45
3.2.18 Controle Metodológico.....	45
3.2.19 Análise dos Dados	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
4 PUBLICAÇÕES.....	42

4.1 Artigo1.....	43
4.2 Artigo 2.....	68
APÊNDICES	94
CRONOGRAMA:	101
ANEXOS.....	109

LISTA DE QUADROS, GRÁFICOS E FIGURAS

QUADRO 1- Lista de fitoterápicos constantes da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais do Ministério da Saúde (RENAME - Fito), suas indicações e ações farmacológicas.....	18
QUADRO 2 - Sequências de administração dos medicamentos do estudo.	39
QUADRO 3 - Eventos diários em cada uma das 3 etapas da pesquisa	41
GRÁFICO 1 - Balanço hídrico final (BH Pós-intervenção – BH0) em cada Grupo.....	82
FIGURA 1 - Aspectos botânicos da <i>Equisetum arvense</i>	48
FIGURA 2 - Caule da <i>E. arvense</i>	48

LISTA DE ANEXOS E APÊNDICES

APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre E Esclarecido	94
APÊNDICE B - Declaração de Consciência Sobre a Realização de Testes de Controle de Uso De Fármacos, Drogas E Álcool.	98
APÊNDICE C - Tabela de Randomização do Delineamento de Williams	99
APÊNDICE D - Formulário Para Entrega dos Tratamentos	100
APÊNDICE E - Orientações Para os Voluntários – Entregue e Explicado Antes de Cada Etapa	101
APÊNDICE F - Normas Para de Hábitos de Vida Durante o Período do Experimento	102
APÊNDICE G - Ficha de Avaliação Clínica – 1ª Avaliação	104
APÊNDICE H - Ficha de Avaliação Médica – Sequência	106
APÊNDICE I - Planilha Deligações em Cada Etapa- Amostra	108
ANEXO A - Laudo Técnico do Fornecedor do Extrato Seco da <i>e Arvense</i>	109
ANEXO B - Laudo Técnico do Fornecedor do Sal Hidroclorotiazida.	110

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BH - Balanço hídrico

BH 0 - Balanço hídrico basal; balanço hídrico do dia zero.

BVS - Biblioteca Virtual em Saúde

DeCS - Descritores em Ciências da Saúde

DPPH - Radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila

ECG - Eletrocardiograma

EMA - Agência Médica Europeia

ESR - Ressonância de Spin Eletrônico

HBP – Hipertrofia benigna da próstata

HMPC - Comitê Sobre Produtos à Base de Plantas Medicinais

HPLC - High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

HPLC-DAD - High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector (Cromatografia Líquida de Alta Precisão com Detector Diode Array)

HPTLC - High Performance Thin Layer Chromatography (Cromatografia de Camada Delgada de Alto Desempenho)

ICF – Instituto de Ciências Farmacêuticas

ISSR-PCR - Inter Repetições de Sequência Simples

LILACS - Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

NEPET - Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas

OMS - Organização Mundial de Saúde

PA – Pressão arterial

SciELO - Scientific Electronic Library Online

SUS - Sistema Único de Saúde

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TGO - Transaminase glutâmica oxalacética, transaminase glutâmica oxalacética sérica (SGOT), aspartato transaminase (AST), ou aspartato aminotransferase (ASAT)

TGP - Transaminase glutâmica pirúvica, transaminase glutâmica pirúvica sérica (SGPT), alanina transaminase (ALT), ou alanina aminotransferase (ALAT)

UFG- Universidade Federal de Goiás

WHO - World Health Organization (Organização Mundial da Saúde)

RESUMO

O tratamento com plantas medicinais é descrito há séculos como parte da medicina tradicional e o interesse em relação aos produtos fitoterápicos é crescente nos dias atuais. A *Equisetum arvense* (cavalinha) tem longa tradição de uso em vários países e, no Brasil, sua comercialização é regulamentada. Entretanto, há poucos estudos sobre os seus efeitos farmacológicos e segurança. O presente estudo visa contribuir com dados clínicos novos sobre o efeito diurético, segurança e ação na função renal da *E. arvense*. Inicialmente, procedeu-se uma revisão bibliográfica, de julho de 2011 a agosto de 2012, com buscas pelo *unitermo* “*Equisetum arvense*” nas bases de dados do PubMed, LILACS, SciELO, BVS, Cochrane e Scopus. Logo após, foi realizado um ensaio clínico duplo-cego randomizado com 36 voluntários sadios do sexo masculino, com idade entre 20 a 55 anos, alocados em 6 grupos ($n=36$) que passaram por 3 etapas de tratamento. Administrou-se alternadamente, por 4 dias seguidos, o extrato seco padronizado de *Equisetum arvense*, o placebo e a hidroclorotiazida, separados por 10 dias de *wash out*. A revisão bibliográfica revelou que, apesar do uso tradicional bem documentado e regulamentado em alguns países, os estudos sobre a *E. arvense* ainda são incompletos para o uso médico bem estabelecido, com base em eficácia comprovada e nível de segurança aceitável, necessitando de mais pesquisas principalmente na parte clínica. Contudo, no ensaio clínico, o extrato da *E. arvense* (900 mg/dia) demonstrou efeito diurético superior ao placebo e comparável à hidroclorotiazida (25 mg/dia), sem diferenças significativas nas taxas urinárias de eletrólitos ou de catabólitos e sem sinais de toxicidade aguda hepática, renal, hematológica ou cardíaca. Novas pesquisas são necessárias para melhor esclarecimento do mecanismo de ação diurética, bem como de outras possíveis ações farmacológicas deste fitomedicamento.

Palavras-chave: Fitoterapia. Plantas medicinais. *Equisetum arvense*. Cavalinha. Diurético.

ABSTRACT

Treatment with medicinal plants is described for centuries as part of traditional medicine and the interest for herbal products is growing consistently in present days. *Equisetum arvense* (horsetail) has a long traditional use in several countries and in Brazil its marketing is regulated. However, the existence of studies on its pharmacological effects and safety of use is questioned. The present study aims to combine to the traditional use and official regulations, new clinical data on the diuretic effect, safety and acute effects on kidney function of *E. arvense*. Primarily we preceded a literature review with searches by uniterm "*Equisetum arvense*" in the databases of PubMed, LILACS, SciELO, BVS, Cochrane, and Scopus. At the same time a double-blind randomized clinical trial randomly distributed 36 male healthy volunteers in 6 groups (n = 6), who have gone through a 3 stages treatment. Alternately for 4 days in a row, where given the drug tested, placebo or hydrochlorothiazide, separated by 10 days of wash out. The literature review showed that, despite of a well-documented traditional use and the regulation in some countries, studies on *E. arvense* are still incomplete for a well-established medical use, based on proven effectiveness and acceptable level of safety, necessitating more research mainly on the clinic area. In the clinical study, the extract of *E. arvense* demonstrated better acute diuretic effect than negative control and similar to hydrochlorothiazide (25 mg), without significant changes in elimination of electrolytes or urinary catabolites, and no signs of acute toxicity, hepatic, renal or cardiac. Further researches are needed to better clarification of the mechanism of action diuretic, as well as other possible pharmacological actions of this phytomedicine.

Keywords: Phytotherapy. Medicinal plants. *Equisetum arvense*. Horsetail (Cavalinha).

1 INTRODUÇÃO GERAL

O tratamento com plantas medicinais é descrito há séculos como parte da medicina tradicional. Atualmente ele continua sendo considerado uma maneira útil de tratar diversas condições médicas (JAREMA, 2008) e observa-se um crescente interesse em relação aos produtos fitoterápicos, inclusive na América do Norte e na Europa (GEAVLETE et al., 2011).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os tratamentos com plantas medicinais movimentam grandes investimentos no mercado internacional. Mais de 100 países têm regulações para esses medicamentos. O lucro anual na Europa Ocidental chegou a US\$ 5 bilhões em 2003-2004. Na China as vendas totalizaram US\$ 14 bilhões em 2005 e no Brasil os lucros foram de R\$ 1,1 bilhão em 2011 (WHO, 2008; BRASIL, 2011).

No Brasil, onde o uso de plantas medicinais chega a atingir 85% da população, o incentivo à pesquisa e à introdução da Fitoterapia nos serviços de saúde pública esteve presente desde 1986, por ocasião da 8ª Conferência Nacional de Saúde. Em continuidade a 10ª Conferência Nacional de Saúde (1996) deliberou, além de diversos outros temas em saúde, pela incorporação no Sistema Único de Saúde (SUS) de práticas terapêuticas como a Fitoterapia, Homeopatia e Acupuntura. Isto culminou como a publicação da Portaria N° 971 de 3 de maio de 2006 que aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS (BRASIL, 2006) e posteriormente com a publicação do Decreto N° 5.813, de 22 de Junho de 2006 que aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) (BRASIL, 2007).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em resposta à crescente necessidade de regulamentar a Fitoterapia no Brasil, vem definindo conceitos fundamentais para sistematizar este complexo tema. Assim, segundo a ANVISA, planta medicinal é qualquer espécie vegetal utilizada com propósitos terapêuticos; fitoterápico é todo medicamento obtido empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais; e fitoterapia é a terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais e

suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas (BRASIL, 2007).

A oficialização da Fitoterapia no SUS seguiu consistentemente e em 2009, o Ministério da Saúde publicou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS. Com o objetivo de subsidiar o desenvolvimento de toda cadeia produtiva, o RENISUS envolve os vários ministérios participantes do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicas, relacionados à regulamentação, cultivo/manejo, produção, comercialização e dispensação de plantas medicinais e fitoterápicos. Além disso, a RENISUS orienta estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da RENAFITO (Relação Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápicos), que é voltada para o desenvolvimento e a inovação na área de plantas medicinais e fitoterápicos que possam ser utilizados no Sistema Único de Saúde.

Diante da necessidade de regulamentar a comercialização de plantas medicinais no Brasil, em março de 2010 a ANVISA instituiu, por força da Resolução RDC-10, a notificação de drogas vegetais preparadas a partir de espécies medicinais de uso popular com reconhecida ação terapêutica. Ao publicar uma lista de 63 plantas medicinais com as devidas informações sobre seu uso correto, a ANVISA estabeleceu as regras de boas práticas de fabricação para a indústria e comércio destes produtos (BRASIL, 2010a).

Como mais uma forma de consolidar a implantação da Fitoterapia, o Ministério da Saúde instituiu, por meio da Portaria N° 889 de abril/2010, a Farmácia Viva no SUS que, no contexto de Política Nacional de Assistência Farmacêutica, deverá em seus diversos níveis realizar desde o cultivo, coleta, processamento, armazenamento de plantas medicinais, manipulação e dispensação de preparações magistrais e oficinais de plantas medicinais e fitoterápicos. O uso racional da Fitoterapia no Sistema Público de Saúde pode ser uma alternativa para a redução do custo dos medicamentos, além de uma menor dependência da compra de medicamentos, pois o próprio

município passará a produzir suas preparações fitoterápicas (BRASIL, 2010b).

Com vistas à efetiva inserção dos medicamentos fitoterápicos no SUS, em 2010 o Ministério da Saúde incluiu uma sessão de fitoterápicos na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), sendo disponibilizados 12 medicamentos, preparados a partir de plantas medicinais com reconhecida eficácia em suas áreas de indicação. O Quadro 1 apresenta a lista destes fitoterápicos, com suas indicações e ações farmacológicas principais (BRASIL, 2010c). Essa lista ainda é pequena e não inclui uma série de medicamentos importantes na atenção primária à saúde que poderiam ser bem atendidas pelos fitoterápicos, entre as quais se destacam aqueles com ações ansiolítica e sedativa, hipoglicemiante, antioxidante, anti-estresse, imuno-estimulante, estimulante do sistema nervoso central, termogênica e diuréticos (WRIGHT et al, 2007).

QUADRO 1- Lista de fitoterápicos constantes da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais do Ministério da Saúde (RENAME - Fito), suas indicações e ações farmacológicas.

Nome científico	Indicação/ação
<i>Cynara scolymus</i> L.	Tratamento dos sintomas de dispepsia funcional (síndrome do desconforto pós-prandial) e de hipercolesterolemia leve a moderada. Apresenta ação colagoga e colerética.
<i>Schinus terebenthifolius</i> Raddi	Apresenta ação cicatrizante, anti-inflamatória e antisséptica tópica, para uso ginecológico.
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.	Tratamento tópico de queimaduras de 1º e 2º graus e como coadjuvante nos casos de <i>psoríase vulgaris</i> .
<i>Rhamnus purshiana</i> DC.	Coadjuvante nos casos de obstipação intestinal eventual.
<i>Maytenus officinalis</i> Mabb.	Coadjuvante no tratamento de gastrite e úlcera gastroduodenal e sintomas de dispepsia.

<i>Mikania glomerata</i> Spreng.	Apresenta ação expectorante e broncodilatadora.
<i>Harpagophytum procumbens</i> DC	Tratamento da dor lombar baixa aguda e nos casos de osteoartrite. Apresenta ação anti-inflamatória.
<i>Mentha x piperita</i> L.	Tratamento da síndrome do cólon irritável. Apresenta ação antiflatulenta e antiespasmódica.
<i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Coadjuvante no alívio dos sintomas do climatério.
<i>Plantago ovata</i> Forssk.	Coadjuvante nos casos de obstipação intestinal habitual. Tratamento da síndrome do cólon irritável.
<i>Salix alba</i> L.	Tratamento de dor lombar baixa aguda. Apresenta ação anti-inflamatória.
<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.)	Coadjuvante nos casos de artrites e osteoartrite. Apresenta ação anti-inflamatória e imunomoduladora.

Embora as substâncias com propriedade diurética sejam de fundamental importância no tratamento das enfermidades do sistema cardiovascular e circulatório, a RENAME-Fito não contempla nenhuma espécie vegetal com essas propriedades.

1.1 Plantas Medicinais com Ação Diurética

Diversas espécies de plantas medicinais são reportadas como diuréticas na literatura científica. Estudos clínicos preliminares demonstraram que várias ervas aumentam o fluxo urinário, tanto em pessoas saudáveis quanto em pacientes com doenças urológicas, e são largamente prescritas na Europa (YARNELL, 2002).

Um estudo de revisão sobre plantas medicinais com efeito diurético levantou 77 artigos sobre o tema, dentre os quais nove trataram de plantas medicinais com efeito diurético em humanos (WRIGHT et al., 2007). As 11 plantas medicinais citadas nesses artigos foram: *Aerva lanata* L. (GOONARATNA et al., 1993; UDUPIHILLE et al., 1986); *Coriandrum sativum* L. (UDUPIHILLE; JIFFRY, 1986); *Alpinia speciosa* L. e *Elephantopus scaber* L. (LARANJA et al., 1991); *Equisetum bogotense* Kunth. (LEMUS et al., 1991); *Hibiscus sabdariffa* L. (HERRERA-ARELLANO et al., 2004), *Imperata cylindrica* Beauv., *Orthosiphon stamineus* Benth., *Plantago major* L. e *Zea mays* L. (DOAN et al., 1992), *Phyllanthus amarus* Schumach. & Thonn., (SRIVIDYA; PERIWAL, 1995); *Vicia faba* L. (VERED et al., 1997); *Withania somnifera* Dunal. (ANDALLU; RADHIKA, 2000).

Vários outros relatos sobre a atividade diurética de plantas medicinais são encontrados na literatura, dentre as quais se destacam *Phyllanthus niruri* L. (MORAIS et al., 2005; TESKE; TRENTINI, 2001), *Palicourea coriacea* (Cham.) K. Schum. (FREITAS et al., 2010), *Equisetum arvense* L. (ALONSO, 2008), *Echinodorus macrophyllum* (Kunth) Micheli (TRESVENZOL et al., 2006), *Costus pictus* D. Don (MACHÍN et al., 2010) e *Polylepis australis* Bitter (THOENE et al., 2007).

1.2 Fisiologia Renal e Diuréticos

Ressaltam-se duas das funções principais dos rins. Primeiramente, os rins eliminam a maior parte dos produtos finais do metabolismo orgânico e, além disso, regulam as concentrações da maior parte dos componentes dos líquidos corporais. Cada rim contém cerca de 1.000.000 de néfrons; e cada néfron, por si mesmo, tem a capacidade de produzir urina. Os néfrons são constituídos por um glomérulo, no qual o líquido é filtrado a partir do sangue, formando o filtrado glomerular; e por um túbulo longo, onde o líquido filtrado é convertido em urina ao longo do seu trajeto até a pelve renal (GUYTON; HALL, 2006). Enquanto o filtrado glomerular flui pelos túbulos, mais de 99% de sua água e percentagens variáveis de seus solutos são

reabsorvidas no sistema vascular, ao mesmo tempo em que quantidades pequenas de algumas substâncias também são secretadas pelos túbulos. O que resta da água tubular e das substâncias dissolvidas passa a constituir a urina (KESTER et al., 2008). Uma das razões mais importantes para a formação diária de grandes quantidades de filtrado glomerular pelos rins é certamente a excreção de ureia. Outros produtos de degradação são excretados pelos rins e obedecem aos mesmos princípios de excreção da ureia, entre eles encontram-se a creatinina e o ácido úrico. Outra regulação importante realizada pelos rins envolve o balanço dos eletrólitos, especialmente sódio e potássio. Para manter esse balanço normal, a velocidade de excreção do sódio e do potássio deve ser cuidadosamente controlada, de modo a corresponder exatamente à sua ingestão diária. Outros eletrólitos também são encontrados na urina, entre os quais figuram cálcio, magnésio e cloretos (CONSTANZO, 2011).

Quando esse balanço natural de água e eletrólitos, realizado pelos rins, sofre alterações e passa a ser insuficiente para manter o organismo em homeostasia, levando a retenção de líquidos, acúmulo de sódio ou potássio, aumento de pressão arterial, entre outras disfunções, pode ser necessário o uso de diuréticos (GALLAGHER et al., 2006).

Os diuréticos são substâncias que aumentam a velocidade de eliminação da urina. A maioria dos diuréticos age ao reduzir a intensidade da reabsorção de líquidos nos túbulos. A principal função dos diuréticos é reduzir a quantidade total de líquido do organismo (SILVA, 2010). Os diuréticos são especialmente importantes no tratamento de edemas e da hipertensão arterial sistêmica. Após o uso de um diurético, geralmente a velocidade de perda de sódio na urina aumenta, bem como a velocidade de perda de água. De forma geral, os diuréticos causam perda acentuada de sódio pela urina, bem como, aumento da diurese (KESTER et al., 2008; GALLAGHER et al., 2006).

Atualmente os diuréticos mais importantes podem ser classificados em dois grandes grupos:

a) os diuréticos osmóticos (ureia, sacarose, manitol, etc.) que por não serem facilmente reabsorvidos pelos túbulos, determinam aumento acentuado das

substâncias osmoticamente ativas, diminuindo a reabsorção de água, de modo que grandes quantidades de líquido tubular passam para a urina. Este mecanismo é semelhante ao que ocorre no diabetes mellitus.

b) os diuréticos que diminuem a reabsorção ativa dos solutos tubulares aumentando a pressão osmótica tubular e provocando diurese osmótica (NAVES et al., 2003; CONSTANZO, 2011). Em relação a este último grupo, os diuréticos mais comumente utilizados são:

- Diuréticos da "alça": furosemida e ácido etacrínico. São os mais potentes de todos os diuréticos utilizados clinicamente. Provocam acentuada redução da capacidade de concentração do rim, de modo que a reabsorção de líquido nos dutos coletores fica ainda mais reduzida.

- Inibidores da anidrase carbônica: acetazolamida (Diamox) e outros inibidores da anidrase carbônica. Estes bloqueiam primariamente a reabsorção de íons bicarbonato nos túbulos proximais. O uso dessa substância também causa certo grau de acidose, devido à perda excessiva de íons bicarbonato na urina.

- Inibidores competitivos da aldosterona: espironolactona e outras substâncias semelhantes. Estes bloqueiam o efeito da aldosterona de promover a reabsorção de sódio e a secreção de potássio nos túbulos. Em alguns casos, a concentração de potássio no líquido extracelular fica perigosamente elevada.

- Tiazídicos: clorotiazida e outros derivados tiazídicos. Atuam primariamente nos túbulos distais, impedindo a reabsorção ativa de sódio; em condições favoráveis, podem determinar a passagem de até 8% do filtrado glomerular para a urina. Estes demonstraram ser diuréticos mais seguros e com menor potencial de efeitos adversos, motivo pelo qual têm sido largamente usados na clínica diária (GUYTON; HALL, 2006; KATZUNG, 2005; NAVES et al., 2003).

1.3 Equisetum Arvense

Dentre as 71 plantas constantes do RENISUS, destaca-se a *Equisetum*

arvense, espécie pertencente à família *Equisetaceae*, popularmente conhecida no Brasil como “cavalinha”. Largamente encontrada nas Américas, Europa e no norte da África e da Ásia (BLUMENTHAL et al., 2000; CYTEC, 1995; LAROUSSE, 2001; PDR FOR HERBAL MEDICINES, 1998), a cavalinha é empregada tradicionalmente como diurética, anti-edematosa, anti-inflamatória e remineralizante (BLUMENTHAL et al., 1998; BHMA, 1996; FRANCO, 2001). Na RDC N° 10, de Março de 2010, que dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a *E. arvense* encontra-se indicada para “edemas (inchaços) por retenção de líquidos”, sob a forma de infusões e decocções (BRASIL, 2010).

A Agência Médica Europeia, em seu “Programa de Avaliação de Medicamentos para Uso Humano”, afirma que os dados clínicos sobre a farmacocinética da *E. arvense* são escassos ou mesmo ausentes (WRIGHT et al., 2007; EMEA, 2008).

Até o momento, as evidências clínicas sobre a atividade diurética da *E. arvense* não são suficientes para documentar uma ação diurética com balanço hídrico negativo. Estudos da década de 1930, como o de Wachter (1938), que mostrou uma excreção urinária mais rápida sem balanço hídrico negativo e o de Vollmer (1937) que indicaram um mecanismo diurético suave com um volume negativo de fluido celular, são contestados pelos dados de Jaretzky (1938, 1940) e Breitwieser (1939), que não encontraram qualquer efeito diurético para a *E. arvense* (EMEA, 2008).

Apesar disto, com base em critérios que valorizam o uso tradicional e evidências de segurança, a Comissão E Alemã (1998), órgão regulador governamental da República Federativa da Alemanha, aprovou o uso da *E. arvense* para o tratamento de edemas pós-traumáticos e estáticos, como diurético em caso de afecções bacterianas e inflamatórias das vias urinárias com presença de sedimentos urinários (BLUMENTHAL, 1998; LUENGO, 2001; DEL FRESNO; PEINADO, 2006).

No Brasil, a *E. arvense* tem sua comercialização regulamentada. Sob a forma de droga vegetal, para a preparação de infusões e decocções, é indicada para tratamento de edemas por retenção de líquidos (BRASIL,

2010). Medicamentos contendo seus extratos secos estão registrados no Ministério da Saúde, indicados como diuréticos e coadjuvantes no tratamento de infecções moderadas do trato urinário baixo (BRASIL, 2012). Anteriormente, um levantamento sobre os medicamentos fitoterápicos registrados no Ministério da Saúde já havia revelado, por meio de pesquisas no site da ANVISA e VISALEGIS, que as espécies *E. arvense* e *Orthosiphon stamineus* são os principais na categoria terapêutica dos diuréticos (CARVALHO et al., 2008).

Apesar da longa tradição, do reconhecimento do seu uso popular e da aprovação oficial de produtos à base de *E. arvense*, ainda faltam estudos clínicos sobre o efeito diurético, a sua segurança e seus efeitos na função renal.

A carência de embasamento para um uso medicinal bem estabelecido, tanto em termos de comprovação da atividade diurética, quanto em termos de segurança, podem ser os motivos pelos quais a *E. arvense* ainda não foi adotada pela medicina baseada em evidências ou pelos grandes laboratórios de pesquisa e produção de medicamentos (EMEA, 2008).

Neste cenário, o presente estudo visa contribuir com dados clínicos sobre o efeito diurético da *E. arvense*, a segurança do seu uso e seus efeitos na função renal.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a atividade diurética e a segurança do uso clínico por via oral do extrato seco da *Equisetum arvense*.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar, por meio de revisão de literatura, os dados disponíveis sobre os aspectos farmacognósticos, farmacológicos, toxicológicos e clínicos da *Equisetum arvense*.

- Avaliar o efeito por via oral do extrato seco padronizado das partes aéreas da *Equisetum arvense*, por meio de estudo clínico duplo-cego randomizado, com voluntários saudáveis, observando-se os seguintes parâmetros:

- a) A atividade como diurético, usando-se como referência o balanço hídrico e o efeito sobre a excreção de eletrólitos.
- b) A segurança de seu uso por meio de exames bioquímicos e Eletrocardiograma (ECG).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa, o protocolo experimental e o termo de consentimento livre e esclarecido TCLE (Apêndice A) foram aprovados, sob o n. 312/10, pelo Comitê de Ética em Pesquisa UFG, credenciado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

Os voluntários assinaram um termo de consentimento especial que conferiu aos pesquisadores o direito de realizar, no material coletado para a pesquisa (sangue e urina), testes para confirmação do correto uso dos medicamentos constantes do protocolo, bem como para verificar o eventual uso de drogas contraindicadas durante a fase experimental (Apêndice B).

3.1 Estudo Teórico – Revisão de Literatura

Foi realizada, no período de julho de 2011 a agosto de 2012, uma revisão da literatura com buscas pelo unitermo “*Equisetum arvense*”, nas bases de dados do PubMed, LILACS, SciELO, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Cochrane e Scopus.

Foram selecionados para o estudo de revisão os artigos em português, inglês, francês e espanhol, que tratavam de aspectos farmacognósticos, farmacológicos, farmacocinéticos, toxicológicos *in vivo* e ensaios clínicos, nos quais a *E. arvense*, na forma de droga vegetal ou seus extratos apareciam como o tema principal ou ao lado de outras espécies. Foram excluídos estudos sobre aspectos agrônômicos e detalhamentos relativos à elucidação da estrutura química de substâncias isoladas da planta.

A leitura dos resumos foi realizada em todos os artigos disponíveis independentemente da data de publicação e foram selecionados para a revisão os artigos que atenderam ao escopo do estudo.

3.2 Estudo Experimental

3.2.1 Desenho Experimental

Ensaio clínico duplo cego randomizado, comparando o efeito de um extrato seco padronizado de *E. arvense* com um controle negativo (placebo) e um controle positivo (hidroclorotiazida) em 36 voluntários sadios do sexo masculino, que usaram os produtos em sua rotina normal, sem regime de internação.

3.2.2 Materiais de Estudo

O extrato seco padronizado das partes aéreas *E. arvense* com 0,026% de flavonoides totais, a hidroclorotiazida e o placebo (amido) foram cedidos pela Farmácia Artesanal, uma farmácia magistral da cidade de Goiânia, devidamente regulada pelos órgãos de saúde. Os certificados de análise dos fornecedores dos medicamentos encontram-se nos Anexos A e B, respectivamente.

O extrato seco, a hidroclorotiazida e o amido foram manipulados na mesma farmácia magistral e acondicionados em cápsulas gelatinosas idênticas. As cápsulas foram fracionadas em frascos identificados pelas letras A, B e C, código definido por um dos pesquisadores e mantido em segredo até o fim dos cálculos estatísticos.

3.2.3 A Determinação do n

Foi utilizada uma amostra de conveniência e, além de testes estatísticos, levou-se em consideração a relação custo x benefício para a determinação do n . Uma vez determinado o n , buscou-se na literatura outros experimentos que testaram clinicamente o efeito diurético de plantas medicinais. Desse levantamento destacou-se uma revisão sobre plantas medicinais com efeito diurético, na qual foram citados diversos ensaios

clínicos, como o estudo de Goonaratna et al. (1993), que pesquisou o efeito diurético da *Aerva lanata* em 14 voluntários. O efeito diurético da *Equisetum bogotense* foi avaliado em 25 voluntários (LARANJA et al., 1991); a *Vicia alba* foi estudada em 12 voluntários (VERED et al., 1997); a *Withania somnifera* foi avaliada quanto ao efeito diurético em um estudo com 12 voluntários (ANDALLU; RADHIKA, 2000); e a *Cerasus avium* foi avaliada em um estudo com 13 indivíduos (HOOMAN et al., 2009). Em outros ensaios clínicos realizados com fitoterápicos, Tavares et al. (2006) utilizaram 26 voluntários e Paulo et al. (2009) trabalharam com 28 voluntários.

3.2.4 Seleção de Voluntários

A seleção e captação dos voluntários foram feitas pelo Departamento de Recrutamento do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF), a partir de um banco de voluntários da instituição, devidamente orientados em relação à importância da correção e fidelidade na coleta dos dados e em cujas fichas constavam exames bioquímicos de triagem normais, realizados até três meses antes do início do experimento.

3.2.5 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram selecionados 36 voluntários sadios do sexo masculino, cadastrados no banco de voluntários do ICF, com idades entre 20 e 55 anos, altura 1,50 – 1,85m e peso 50 – 90 kg e que passaram pelos critérios de exclusão, com base na história médica, dados demográficos, história medicamentosa, exames físicos, sinais vitais e resultados dos exames laboratoriais.

Foram excluídos indivíduos fumantes ou portadores de insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão arterial ou outras doenças correlatas, bem como indivíduos com o histórico de doença renal, doenças cardiovasculares ou distúrbios endócrinos.

Outros fatores de exclusão utilizados: menores de idade e idosos, sexo feminino, o não seguimento do protocolo corretamente em qualquer fase do experimento ou o aparecimento de reações inesperadas ou exacerbadas.

3.2.6 Randomização dos Voluntários

Os 36 voluntários (1 a 36) foram alocados randomicamente para seis sequências de administração (Apêndice C), de forma que cada voluntário atuou como controle de si mesmo, seguindo o delineamento clássico de uso prático proposto por Williams (1949), que possui propriedades de balanceamento e é indicado para que as possíveis diferenças entre tratamentos pudessem ser detectadas (CHOW; LIU, 2000).

3.2.7 Protocolo Experimental

Cada uma das três intervenções propostas (*Equisetum arvense* 900 mg/dia, hidroclorotiazida 25 mg/dia e amido (600-900 mg/dia) foi clinicamente avaliado por 4 dias. Visando excluir qualquer tipo de efeito residual de intervenções anteriores, houve um período de *wash out* de 10 dias, estabelecido com base na farmacocinética da hidroclorotiazida, cuja meia vida normal é de 15 horas e com efeito diurético máximo de 12 horas (LAFEPE, 2011) (Quadro 1). No período de *wash out*, os voluntários não receberam intervenção alguma, mas continuaram seguindo as orientações quanto à dieta e aos hábitos de vida, devido ao seguimento das rotinas do processo experimental.

No modelo seguido, todos os voluntários usaram ao longo da fase experimental os três tipos de intervenção, identificados cegamente como A, B e C. Cada voluntário atuou como controle de si mesmo, visando principalmente controlar a variabilidade das respostas e reduzir as chances de resultados falsos positivos ou negativos. O esquema de intervenção foi repetido nas mesmas condições metodológicas.

QUADRO 2 - Sequências de administração dos medicamentos do estudo.

	ETAPA				
	PRIMEIRA		SEGUNDA		TERCEIRA
	Intervenção 4 dias	10 dias	Intervenção 4 dias	10 dias	Intervenção 4 dias
Seq. 1	A (n=6)	Wash out	B (n=6)	Wash out	C (n=6)
Seq. 2	C (n=6)	Wash out	A (n=6)	Wash out	B (n=6)
Seq. 3	B (n=6)	Wash out	C (n=6)	Wash out	A (n=6)
Seq. 4	C (n=6)	Wash out	B (n=6)	Wash out	A (n=6)
Seq. 5	B (n=6)	Wash out	A (n=6)	Wash out	C (n=6)
Seq. 6	A (n=6)	Wash out	C (n=6)	Wash out	B (n=6)

3.2.8 Intervenções

As intervenções tiveram apresentação farmacêutica idêntica (cápsulas gelatinosas n° 0). Todos os voluntários receberam, em cada etapa, dois frascos rotulados com a intervenção correspondente e numerados como Frasco 1 e Frasco 2. O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis, a serem tomadas às 8 h da manhã. O Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, a serem tomadas duas vezes ao dia. A intervenção durou quatro dias em cada etapa. As cápsulas foram entregues aos voluntários na Unidade de Pesquisa

Clínica do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF), seguindo uma ordem randomizada, sendo:

- **Intervenção A** (*Equisetum arvense*): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, todas com 300 mg de *E. arvense* (extrato seco com 0,026% de flavonoides totais). A dose diária foi de 900 mg, seguindo a posologia de uma cápsula 3 vezes ao dia.

- **Intervenção B** (Hidroclorotiazida): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis com 25 mg de hidroclorotiazida e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, com 300 mg de amido (placebo). A dose diária de hidroclorotiazida foi de 25 mg, em dose única pela manhã e mais duas doses de placebo ao dia.

- **Intervenção C** (Amido): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, todas com 300 mg de amido. A posologia foi uma cápsula 3 vezes ao dia.

3.2.9 Dispensação das Cápsulas

As cápsulas foram dispensadas aos voluntários na Unidade de Pesquisa Clínica do ICF por uma farmacêutica do Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas da Universidade Federal de Goiás, que também não teve conhecimento da identidade do material dispensado aos voluntários. A dispensação das cápsulas aos voluntários seguiu uma ordem randomizada, descrita na planilha apresentada no Apêndice D e foi monitorada pela mesma farmacêutica, sob conferência de outros pesquisadores. Os frascos contendo as cápsulas foram entregues aos voluntários no **Dia Zero** de cada Etapa de Experimento.

3.2.10 Divisão dos dias das Etapas de Experimento

O Dia Zero foi o dia anterior ao início da intervenção, em cada Etapa.

Os Dias 1, 2, 3 e 4 corresponderam aos dias de intervenção, após o qual se seguiam os 10 dias de *wash out*.

O **Dia 1** foi sempre um sábado. O décimo dia de *wash out* correspondia ao Dia Zero da Etapa seguinte, que incidiu numa sexta-feira. O Quadro 2 representa esquematicamente a distribuição das atividades dos voluntários ao longo dos dias da semana durante a fase experimental.

QUADRO 3 - Eventos diários em cada uma das 3 etapas da pesquisa

	Dia 0	1º Dia	2º Dia	3º Dia	4º Dia	5º Dia	6º Dia	7º Dia	8º Dia	9º Dia	10º Dia	11º Dia	12º Dia	13º Dia	14º Dia
Dia da Semana	Sex	Sáb	Dom	Seg	Ter	Qua	Qui	Sex	Sab	Dom	Seg	Ter	Qua	Qui	Sex 0
Tratamento		X	X	X	X										
Wash Out	X					X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Exame Médico	X					X									X
Exames Sangue	X					X									X
Exames Urina	X					X									X
Balanço Hídrico	X	X	X	X	X										X

3.2.11 Atividades Durante a Fase Experimental

Antes do início da fase experimental, os voluntários incluídos no ensaio clínico receberam as orientações sobre suas atividades durante o experimento em cada fase (Apêndice E).

Todos foram orientados a não modificar os seus hábitos alimentares, para evitar que alterações bruscas na dieta pudessem promover transtornos fisiológicos imprevisíveis. Além disso, não foi permitido o consumo de drogas, bebidas alcoólicas e bebidas diuréticas (café, chás) durante o experimento.

Os voluntários foram orientados a manter as suas atividades físicas

diárias usuais e suas rotinas normais. Todavia foram proibidos, no período do experimento, de realizarem exercícios intensos ou atividades físicas prolongadas além dos seus hábitos cotidianos, conforme formulário de orientação apresentado por escrito e explicado em reuniões (Apêndice F).

3.2.12 Avaliações Médicas e Prescrição da Intervenção:

Os voluntários foram examinados no ambulatório da Unidade de Pesquisa Clínica do ICF. Inicialmente, foi feita anamnese médica completa de cada voluntário, seguindo uma Ficha Clínica Ambulatorial - Primeira Avaliação (Apêndice G). Posteriormente, procedeu-se uma avaliação clínica em cada fase, antes e após a administração das intervenções, com registro em fichas clínicas sequenciais (Apêndice H), de todas as manifestações clínicas em geral e possíveis reações adversas, exame físico e medida de pressão arterial, além dos exames laboratoriais constantes do protocolo.

A pressão arterial (PA) foi aferida pelo mesmo médico assistente em cada uma das Avaliações Médicas, de acordo com as recomendações das VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial e adicionalmente foi seguido o seguinte protocolo:

- a-Foi usado o mesmo aparelho (esfigmomanômetro modelo anaeróide Marca BD), devidamente calibrado por laboratório certificado pelo INMETRO com validade até 2012.
- b-O paciente foi mantido em posição sentada com o braço totalmente apoiado e relaxado sobre uma mesa.
- c-As medidas de PA foram efetuadas no braço direito.
- d- Após 3 minutos de repouso, foi realizada nova medida da PA, sendo considerado para análise, o valor da segunda medida.

3.2.13 Exames Laboratoriais

As coletas de sangue e urina foram feitas na Unidade de Pesquisa Clínica do ICF, por farmacêuticos do Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas da Universidade Federal de Goiás (NEPET-UFG). As amostras foram colhidas no Dia Zero e no Dia 5 de cada etapa do experimento e adequadamente acondicionadas para transporte ao Laboratório Rômulo Rocha - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, onde as análises foram realizadas.

Todos os voluntários submeteram-se aos seguintes exames de sangue: hemograma completo e dosagens bioquímicas (glicose de jejum, albumina, TGO, TGP, Gama GT, bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, ureia, creatinina, sódio, potássio, cloreto, fósforo e magnésio) e urina: urina tipo I e dosagens bioquímicas de sódio e potássio.

3.2.14 Avaliação do Efeito Diurético

O efeito diurético foi avaliado com base nos seguintes critérios:

a) Avaliação do BH Final por Grupo: O BH Final consiste na diferença entre o BH pós-intervenção e o BH do dia zero (BH0).

Assim: $BH \text{ Final} = BH \text{ pós-intervenção} - BH0$

b) Comparação entre Grupos: comparação entre os BHs Finais dos Grupos entre si.

c) Avaliação intragrupo: Avaliar os BH Finais em cada um dos Grupos.

d) O efeito sobre as medidas urinárias de eletrólitos comparando-se a medida do dia 4 em relação à medida do dia zero, em cada etapa de intervenção.

3.2.15 O Balanço Hídrico (BH)

O BH refletiu a diferença entre o volume de líquidos ingeridos e o volume urinado nas 24 horas e foi medido desde a primeira micção após

acordar pela manhã até a última micção antes de levantar-se na manhã do dia seguinte (HOOMAN et al., 2009). Os voluntários anotaram estes dados desde o Dia Zero até o Dia 4 de cada etapa do protocolo e cada BH recebeu o número correspondente ao dia a que se referia o cálculo.

3.2.16 Medida de Líquidos Ingeridos e Urinados

Os voluntários receberam, para uso contínuo durante o experimento, uma mochila com três compartimentos separados para conter, de forma higiênica, um copo graduado (para medir os líquidos a serem ingeridos), um frasco-medidor de urina, com tampa (para medir a urina eliminada), uma caderneta e uma caneta para registro do volume de líquidos ingeridos e do volume urinado. Todos assinaram um termo de recebimento do material e de compromisso de seguimento das orientações recebidas. O volume de líquidos ingeridos foi anotado após cada ingestão e o volume urinado foi registrado após cada micção, de acordo com as orientações repassadas aos voluntários.

3.2.17 Avaliação da Segurança de Uso

3.2.17.1 *Relato de eventos adversos*

Os voluntários foram orientados a relatar todos os sintomas observados, bem como o eventual uso de qualquer medicação de urgência. Os eventos adversos relatados durante o ensaio clínico foram registrados pelo investigador na ficha de acompanhamento clínico, que seguiu um modelo de *Case Report Form* (CRF) (DEBAKEY; DEBAKEY, 1983). Os sintomas relatados foram classificados, quanto à intensidade, em: leves, moderados e graves (NASCIMENTO et al., 2008).

3.2.17.2 Segurança de Uso x Toxicidade

Foram analisadas antes e após a intervenção, em cada uma das três etapas, os exames laboratoriais citados no item 3.2.13, bem como o eletrocardiograma antes do início e após o final do experimento.

3.2.18 Controle Metodológico

Para reduzir e monitorar os parâmetros não controlados, tais como a ingestão de líquidos, de sódio e de atividades físicas, bem como efeitos de outras drogas, alguns recursos foram utilizados:

- 1) O estudo foi aplicado em voluntários cientes da importância da pesquisa clínica, recrutados, selecionados e orientados por um instituto de pesquisas clínicas, independente e conceituado.
- 2) Recomendou-se que os voluntários mantivessem sua rotina normal em relação a esses parâmetros, com exceção do uso de produtos e práticas físicas que pudesse interferir com o resultado da pesquisa.
- 3) Houve acompanhamento telefônico diário nas etapas de uso dos medicamentos e avaliações clínicas semanais ao longo dos 42 dias de estudo (Apêndice I).
- 4) As orientações foram apresentadas aos voluntários em reuniões de recrutamento para a pesquisa, utilizando-se também material escrito.

3.2.19 Análise dos Dados

Os dados foram digitados e armazenados no software Excel para Windows para posterior análise em programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS, versão 17.0. O teste Komogorov-Smirnov foi usado para verificar se os dados apresentaram distribuição normal. Para os dados de distribuição normal foi usado o teste t-Student pareado para verificar a existência ou não de diferença significativa no pré e pós intervenção. O teste t-Student para dados independentes foi usado para

testar a existencia de diferença significativa entre os grupos A, B e C.

Foi aplicada a análise de variância afim de verificar a existencia ou não de diferença significativa das variáveis em relação aos grupos A, B e C.

O teste de Wilcoxon e o teste de correlação de Pearson foram usados para análise dos teores urinários de sódio e potássio antes e depois das intervenções. Foi considerado o nível de 95% de confiança, ou seja, $p < 0,05$.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, J.R. **Fitomedicina**: curso para profissionais da área da saúde. São Paulo: Pharmabooks, 2008. 195p.

ANDALLU, B.; RADHIKA, B. Hypoglycemic, diuretic and hypocholesterolemic effect of winter cherry (*Withania somnifera*, Dunal) root. **Indian Journal of Experimental Biology**, n. 38, p. 607–609, 2000

BARACHO N.C.V. et al. Estudo da hepatotoxicidade aguda da *Equisetum arvense* L. em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira** [online], v. 24, n. 6, p. 449-453, 2009.

BHMA. BRITISH HERBAL MEDICINE ASSOCIATION. **British Herbal Pharmacopoeia**. London: British Herbal Medicine Association, 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS – Atitude de Ampliação de Acesso**. Brasília, DF, 2006.

Disponível em:

<<http://189.28.128.100/dab/docs/publicacoes/geral/pnpic.pdf>>. Acesso em: 12 ago. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Brasília. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF, 2007. Disponível em:

<http://portal.mda.gov.br/portal/saf/arquivos/view/Programa_Nacional_de_Plantas_Medicinais_e_Fitoter%C3%A1picos..pdf>. Acesso em: 12 ago. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Divisão de Assistência Farmacêutica / Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Especiais. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS – RENISUS**. Brasília, DF, 2009.

Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30780>. Acesso em: 08 abr. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC N°10, de Março de 2010. **Notificações de Drogas Vegetais junto à ANVISA**. Brasília, DF, 21 mar. 2010a, Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/103202-10>>. Acesso em: 25 jun. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria 886, de 20 de Abril de 2010. Institui a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). **Diário Oficial {da} União**. Brasília, DF, 22 abr. 2010b. Seção 1, p. 75

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. 2010

Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. RENAME. Brasília, DF, 2010c. Disponível em:

<<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/rename2010final.pdf> >.

Acesso em: 15 jun. 2012.

BRASIL. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. INPI. **Laboratórios reforçam aposta no segmento fitoterápico.** Brasília, DF. 2011. Disponível em:

<http://www.inpi.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=628:laboratorios-reforcaram-apostas-no-segmento-fitoterapico&catid=53:clipping&Itemid=148>. Acesso em: 20 mai. 2011

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – (ANVISA). DATAVISA. **Consulta de Medicamentos.** 2012. Disponível em:<<http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/consultaproduto/Medicamentos/frmConsultaMedicamentosPersistir.asp>>. Acesso em: 20 mai. 2012.

CARVALHO, A. C. B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 2, p. 314-319, 2008.

DEL FRESNO, Á.M.V.; PEINADO, I.I. Equiseto: Farmacología y farmacoterapia. Universidad Complutense de Madrid. **Fitofarmacia**, v. 20, n. 2, p. 74-77, 2006

DOAN, D.D. et al. Studies on the individual and combined diuretic effects of four vietnamese traditional herbal remedies (*Zea mays*, *Imperata cylindrica*, *Plantago major* and *Orthosiphon stamineus*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 36, p. 225–231, 1992.

EMA - EUROPEAN MEDICAL AGENCY. Evaluation of Medicines for Human Use Committee on Herbal Medicinal Products. ***Equisetum arvense* L., herba.** London, 2008. 41p.

FRANCO, L.L. **As Sensacionais 50 Plantas Mediciniais-V.2.** Curitiba: Editora Lobo Franco, 2001, 67p.

FREITAS, P. C. M. et al. Diuretic activity and acute oral toxicity of *Palicourea coriacea* (Cham.) K Schum. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 501-503, 2010.

GALLAGHER, M.; PERKOVIC, V.; CHALMERS, J. Diuretics: a modern day treatment option? **Nephrology**, n. 11, p. 419–427, 2006.

GEAVLETE, P.; MULTESCU, R.; GEAVLETE, B. *Serenoa repens* extract in the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Therapeutic Advances in Urology** v. 3, n. 4, p. 193-8, 2011.

GOONARATNA, C.; THABREW, I.; WIJEWARDENA, K. Does *Aerva lanata* have diuretic properties? **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, n. 37, p. 135-137, 1993.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2006. 349p.

HERRERA-ARELLANO, A. et al. Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. **Phytomedicine**, n. 11, p. 375–382, 2004.

HOOMAN, N. et al. Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 22, p. 381-383, 2009.

JAREMA, M. Herbal drug treatment. **Neuro Endocrinology Letters**, v. 29, n. 1, p. 93-104, 2008.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 207p.

KESTER, M. et al. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 161p.

LARANJA, S.M.R.; BERGAMASCHI, C.M.; SCHOR, N. Evaluation of acute administration of natural products with potential diuretic effects, in humans. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n. 86, suppl. 2, p. 237-40, 1991.

LAROUSSE, V. (Ed). **Encyclopédie des Plantes Médicinales**. Paris: Larousse/VUEF, 2001.

LEMUS, I. et al. Diuretic activity of an *Equisetum bogotense* tea (Platero herb): evaluation in healthy volunteers. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 54, p. 55-58, 1996.

LUENGO, M.T.L. Fitoterapia - Plantas medicinales con acción diurética. Disponível em: < [http : // www.doymafarma.com](http://www.doymafarma.com). 2010> Acesso em 8.abr.2011.

MACHÍN, M. P. et al. Actividad diurética de una decocción de *Costus pictus* D. Don. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.15, n.2, p. 3-12, 2010.

MIMICA-DUKIC, N. et al. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. **Molecules**, v. 17, n. 13, p. 1455-1464, 2008.

MORAIS, I. C. et al. Levantamento sobre plantas medicinais comercializadas em Goiânia: abordagem popular (raizeiros) e abordagem científica (levantamento bibliográfico). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n.1, p.13-16, 2005.

NAVES, L. A. et al. Distúrbios na secreção e ação do hormônio antidiurético (revisão). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 47 n. 4, p. 467-481, 2003.

PAULO, P.T.C. et al. Ensaios clínicos toxicológicos, fase I, de um fitoterápico composto (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n.1, p. 68-76, 2009. PDR FOR HERBAL MEDICINES - The information standard for Complementary Medicine. New Jersey: Medical Economics Company, 1998.

SAFIYEH, S. et al. Antidiabetic effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in streptozotocin-induced diabetes in male rats. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, n. 10, p.1661-1666, 2007a.

SAFIYEH, S.; AZARBAIZANI F.F.; NEJATI V. The effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in histological changes of pancreatic beta-cells in streptozotocin-induced diabetic in rats. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 1, n. 10, p. 4236-4240, 2007b.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 727p.

SRIVIDYA, N.; PERIWAL, S. Diuretic, hypotensive and hypoglycaemic effect of *Phyllanthus amarus*. **Indian Journal of Experimental Biology**, n. 33, p. 861-864, 1995.

TAVARES, J.P. et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico a base de associações de plantas, mel e própolis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 3, p. 350-356, 2006.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. **Herbarium**: Compêndio de Fitoterapia, 4. ed, Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 2001. 317 p.

THOENE, A. D.; INTERSIMONE, N. H.; RIERA, A. S. Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.12, n.4, 2007.

TRESVENZOL, L. M. et al. Estudo sobre o comércio informal de plantas medicinais em Goiânia e cidades vizinhas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, p. 23-28, 2006. Disponível em: <<http://www.farmacia.ufg.br/revista/geral/home.htm>>. Acesso em: 02 maio, 2011.

UDUPIHILLE, M., JIFFRY, M.T. Diuretic effect of *Aerva lanata* with water, normal saline and coriander as controls. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, n. 30, p. 91–97, 1986.

VERED, Y. et al. The influence of *Vicia faba* (broad bean) seedlings on urinary sodium excretion. **Planta Medica**, n. 63, p. 237–240, 1997.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Traditional Medicine**. 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>>. Acesso: em 20 abr. 2011.

WRIGHT, C.I. et al. Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 114, p. 1-31, 2007.

YARNELL, E. Botanical medicines for the urinary tract. **World Journal of Urology**, n. 20, p. 285–293, 2002.

4 PUBLICAÇÕES

Artigo 1. Equisetum Arvense: Evidências Científicas para o uso Clínico

Danilo Maciel Carneiro^{1,3}, Leonice Manrique F. Tresvenzol², Paulo César Brandão Veiga Jardim⁴, Luiz Carlos da Cunha¹,

¹ NEPET- UFG – – UFG

² Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás

³ Hospital de Medicina Alternativa – Secr. de Estado da Saúde de Goiás – SUS-GO

⁴ Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Coordenador Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UFG. Coordenador da Liga de Hipertensão Arterial da FM/HC/UFG.

Revista a ser submetida: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine

Artigo 2 – Ensaio clínico duplo-cego randomizado para avaliar o efeito diurético da *Equisetum arvense* (cavalinha) em voluntários sadios.

Danilo Maciel Carneiro^{1,2}, Ramias Calixto Freire¹, Tereza Cristina de Deus Honório¹, Iury Zoghaib¹, Fabiana Fernandes Cardoso⁴, Leonice Manrique F. Tresvenzol⁵, José Realino de Paula⁵, Paulo César Brandão Veiga Jardim⁶, Luiz Carlos da Cunha¹

¹ NEPET- UFG – Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (Faculdade de Farmácia – UFG)

² Hospital de Medicina Alternativa – Secr. de Estado da Saúde de Goiás – SUS-GO

³ Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha – Faculdade de Farmácia – UFG

⁴ Instituto de Ciências Farmacêuticas – ICF – Goiânia-GO

⁵ Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás

⁶ Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Coordenador Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UFG. Coordenador da Liga de Hipertensão Arterial da FM/HC/UFG.

Revista a ser submetida: Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine

4.1 Artigo 1

***Equisetum arvense*: Evidências científicas para o uso clínico**

Danilo Maciel Carneiro^{1, 3}, Leonice Manrique F. Tresvenzol², Paulo César Brandão Veiga Jardim⁴, Luiz Carlos da Cunha¹

¹ NEPET- UFG – Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas – UFG

² Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás

³ Hospital de Medicina Alternativa – Secr. de Estado da Saúde de Goiás – SUS-GO

⁴ Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Coordenador Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UFG. Coordenador da Liga de Hipertensão Arterial da FM/HC/UFG.

Correspondência:

Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET-UFG)-Sala 36- Faculdade de Farmácia/UFG-Av. Universitária com 1a. Avenida, s/n-Setor Universitário-CEP: 74525-030 - Goiânia - GO.

Tel/fax: (+5562) 3521- 1821 / 3209-6044

E-mail: lccunha@farmacia.ufg.br

RESUMO

Este estudo teve como objetivo a revisão bibliográfica sobre a *Equisetum arvense* L. (cavalinha). Foram realizadas buscas pelo unitermo “*Equisetum arvense*” nas bases de dados do PubMed, LILACS, SciELO, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Cochrane e Scopus, no período de julho de 2011 a agosto de 2012. Foram selecionados, além de documentos oficiais, 58 artigos, enfocando aspectos farmacognósticos (4), atividades biológicas *in vitro* (23) e *in vivo* (27), dois artigos de revisão, um ensaio clínico com *E. arvense* em associação com outras plantas e um ensaio clínico da *E. arvense*. Entre os efeitos farmacológicos mais relevantes foram relatadas atividades antioxidante, hepatoprotetora, antiagregante plaquetária, citotóxica, antidiabética, analgésica, anti-inflamatória, remineralizante, antilitiásica, diurética e atividades no sistema nervoso central (ansiolítica, sedativa, anticonvulsivante e estimulante do desempenho cognitivo). O único estudo clínico encontrado sobre a *E. arvense* analisou a eliminação de metabólitos urinários de flavonoides e ácidos hidroxicinâmicos em voluntários sadios após a administração oral do extrato bruto das partes aéreas. Apesar de o uso tradicional ser bem estabelecido e de seu uso ser regulamentado em alguns países, os estudos sobre a *E. arvense* ainda são incompletos para uso médico bem estabelecido, com base em eficácia comprovada e nível de segurança aceitável, necessitando de mais pesquisas principalmente na parte clínica.

Palavras-Chave: Fitoterapia. Plantas Medicinais. *Equisetum arvense*. Medicina tradicional. Etnofarmacologia.

ABSTRACT

The aim of this study was to do a literature review on Equisetum arvense L (horsetail). Searches were carried out by uniterms "Equisetum arvense" in PubMed, LILACS, SciELO, Virtual Health Library (VHL), Cochrane and Scopus databases, in the period from July, 2011 to August, 2012. We have selected, as well as chapters in books and official documents, 58 scientific articles, divided among aspects including pharmacognostics (4), biological activities in vitro (23) and in vivo (27), two review articles, one clinical essay about E. arvense in association with other plants and one clinical essay about E. arvense alone. The most relevant pharmacological effects were antioxidant, hepatoprotective, platelet anti-agregant, cytotoxic, anti-diabetic, anti-inflammatory, analgesic, diuretic,

antilitiasic, remineralizing activity and activities in the central nervous system (sedative, anxiolytic, anti-convulsivant activity and stimulating of cognitive performance). The only one clinical study found exclusively on E. arvense examined the elimination of urinary metabolites of flavonoids and hydroxycinnamic acids after oral administration of its crude extract to healthy volunteers. Although the traditional use seems to be well established and its use regulated in some countries, the studies on E. arvense are still incomplete for a well-established medicinal use, based on proven efficacy and acceptable level of safety, necessitating more researches, mainly on clinical area.

Keywords: *Phytotherapy. Medicinal plants. Equisetum arvense. Traditional Medicine. Ethnopharmacology.*

1 INTRODUÇÃO

A *Equisetum arvense* L. é uma planta medicinal originária da Europa e encontrada nas Américas e no norte da África e da Ásia [1]. No Brasil encontra-se difundida por todo o território nacional e é popularmente conhecida como “cavalinha” [2]. É tradicionalmente indicada para uma grande gama de distúrbios da saúde, especialmente como um diurético leve, antiedematosa, anti-inflamatória e remineralizante [1].

No Brasil, essa planta faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), divulgada pelo Ministério da Saúde [3]. Por meio da RDC N° 10 (2010), que dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a *Equisetum arvense* teve sua comercialização regulamentada, sob a forma de droga vegetal, indicada para “edemas (inchaços) por retenção de líquidos”, sob a forma de infusões e decocções [4]. Na categoria de medicamento fitoterápico, encontra-se registrado na ANVISA uma especialidade farmacêutica à base de extrato seco de *Equisetum arvense* [5].

Entretanto, a Agência Médica Europeia (EMA), em seu Programa de Avaliação de Medicamentos para Uso Humano, afirma que os dados clínicos sobre a absorção, distribuição e farmacocinética da *Equisetum arvense* são ainda insuficientes [1].

O presente trabalho teve como objetivo fazer uma revisão bibliográfica sobre a *Equisetum arvense* (cavalinha) para que sirva de suporte aos pesquisadores e legisladores em fitoterapia interessados em dados sobre essa importante planta medicinal.

2 METODOLOGIA

A revisão da literatura foi realizada nas bases de dados do PubMed, LILACS, SciELO, Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Cochrane e Scopus, no período de julho 2011 a agosto de 2012, utilizando o unitermo “*Equisetum arvense*”. Foram selecionados para esse estudo os artigos em português, inglês, francês e espanhol, que tratavam de aspectos farmacognósticos, farmacológicos, farmacocinéticos, toxicológicos *in vivo* e ensaios clínicos, nos quais a *E. arvense*, na forma de droga vegetal ou seus extratos apareciam como o tema principal ou ao lado de outras espécies. Foram excluídos estudos sobre aspectos agronômicos e detalhamentos relativos à elucidação da estrutura química de substâncias isoladas da planta.

Os artigos encontrados, independentemente da data de publicação foram lidos, sendo selecionados para a revisão aqueles que atenderam ao escopo do estudo.

3 RESULTADOS

A pesquisa bibliográfica sobre *Equisetum arvense* nas bases de dados consultadas gerou 159 artigos. Foram incluídos nessa revisão, além de documentos oficiais, 58 artigos, a maioria deles abordando diversos aspectos da planta. Em relação ao seu conteúdo principal, os textos foram assim distribuídos: em aspectos farmacognósticos (4), atividades biológicas *in vitro* (23) e *in vivo* (27), dois artigos de revisão (2), um ensaio clínico com *E. arvense* em associação com outras plantas (1) e ensaio clínico utilizando apenas a *E. arvense* (1).

3.1 Aspectos Farmacognósticos

A *Equisetum arvense* L. pertence à família *Equisetaceae*, gênero *Equisetum* L., subgênero *Equisetum*. A denominação tem sua origem no latim, onde *equi* = cavalo e *setum* = cauda. Os caules desfolhados, quando dessecados, tornam-se ocos, ásperos e fortes e os vários ramos finos com pequenas folhas duras, como escamas, conferem aspecto semelhante à cauda de um cavalo [6]. A denominação “*arvense*” está relacionada com seu aspecto geral que lembra uma árvore. É uma planta perene, de aparência peculiar e que atinge altura de 20 a 65 cm, portando um caule aéreo principal ramificado com verticilos [7]. Os caules são de dois tipos: esporíferos (férteis) e estéreis. Os caules esporíferos são simples e de coloração avermelhada, com bainhas castanhas, frouxas e apresentando uma espiga oblonga que desaparece no verão; na sua extremidade terminal e nas ramificações, observa-se uma estrutura de reprodução denominada de estróbilo, onde se dá a produção de esporos. Os caules estéreis são de coloração verde, sulcados, ocos, com ramos delgados que se inserem dois a dois no caule. Esses ramos, simples e de tom verde claros, têm 4 ângulos, ásperos e articulados. O rizoma é profundo e atinge até 2 metros de profundidade [7,8]. Figuras 1 e 2.

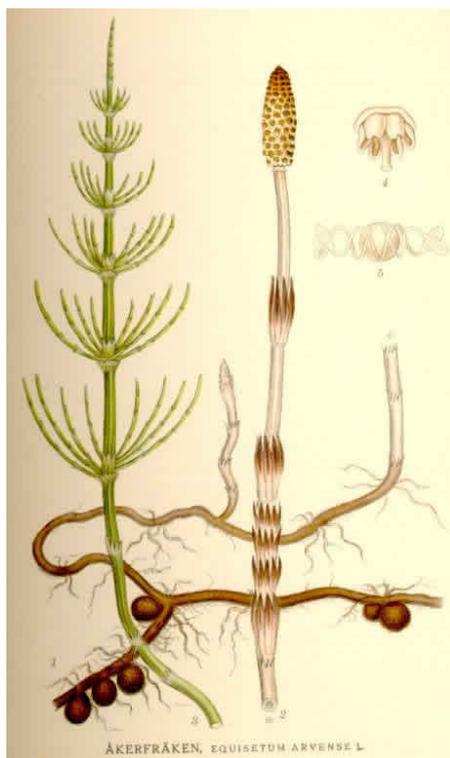


Figura 1 - Aspectos botânicos da *Equisetum arvense*.
Fonte: Perez et al.[6]

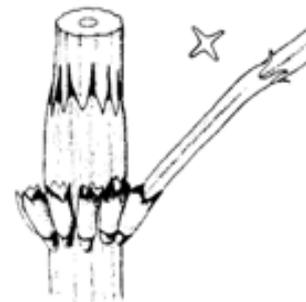
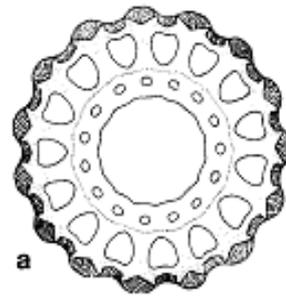


Figura 2 - Caule da *E. rvense*.
Fonte: Jermy e al. [7].

A droga vegetal está constituída pelas partes aéreas, principalmente pelos ramos estéreis dessecados [1,9]. Estes apresentam córtex, parênquima, xilema, estômatos e grânulos de sílica. Para a caracterização da droga vegetal foram relatados: teor de água (15,45%), cinzas totais (22%), cinzas solúveis em ácidos (11%) e cinzas insolúveis (8%) p/p e Índice de espuma: 100 [10].

Quanto aos constituintes químicos, essa planta é rica em minerais, destacando-se pelo conteúdo em silício, especialmente sob a forma de SiO_2 (5 a 10%) e uma pequena parte como silicatos hidrossolúveis [1,6]. Além dos ácidos silícicos e silicatos, foram identificados os íons potássio, cálcio, fósforo e, em menor proporção, sódio, magnésio, zinco, alumínio e manganês [9]. Flavonoides foram encontrados na proporção de 0,2 a 0,9%, principalmente como glicosídeos kaempferol, apigenina, luteolina, quercetina (quercetina 3-glucosídeo e os seus ésteres de malonil); rutina e a

isoquercitrina [9,10,11]. Glicosídeos fenólicos tais como os equisetumosídeos A, B e C foram identificados nos estróbilos férteis [12]. A fração esteroidal está constituída essencialmente de beta-sitosterol (60%), campesterol (32,9%), isofucosterol (5,9%) e colesterol (traços) [12,13]. Foram detectados os ácidos clorogênico, cafeico e os fenólicos, como o ácido di-E-cafeoil-meso-tartárico (0,008%), além de metil-ésteres dos ácidos protocatechuico [9]. Estão descritos também como constituintes dessa planta: estirilpirona, ácidos poliênicos, ácidos dicarboxílicos, bem como traços de alcaloides (nicotina, palustrina e palustrinina) [9, 12,14]. Um complexo inicialmente considerado como saponínico (equisetonina), foi posteriormente identificado como uma mistura de açúcares e flavonoides [1].

Em relação ao controle de qualidade, Gallo et al. (2011) utilizaram dois métodos cromatográficos (HPTLC e HPLC) para determinar a impressão digital da *E. arvense* e outras espécies correlatas. No caso da *E. arvense*, o HPLC pode ser útil para identificar e avaliar a qualidade do material botânico oriundo de espécies correlatas e para avaliar a presença de componentes isoladamente. Todavia o HPTLC revelou-se o método de escolha para uma ampla avaliação da qualidade de preparações com ervas medicinais, pela facilidade de preparação das amostras e pela possibilidade de se analisarem diversas amostras em um curto período de tempo [15]. Quando se utilizou cromatografia de camada delgada (CCD) para o *E. arvense*, os marcadores indicados foram rutina, ácido clorogênico, kaempferol, ácido cafeico e a isoquercitrina [11,16]. Wagner e Bladt (2001) desenvolveram cromatogramas-padrão em camada delgada utilizando como marcadores a isoquercitrina, ácido cafeico, galuteolina, rutina e brucina, visando à identificação de várias espécies de *Equisetum*, entre elas a *E. arvense* [11].

(BRUNE, et al. 2008) relataram a aplicação das “inter-repetições de sequência simples” (ISSR)-PCR para a diferenciação taxonômica das espécies de *Equisetum*, com foco especial na detecção de híbridos. Os autores afirmam que os padrões de banda de ISSR são bastante típicos para cada uma das espécies mais comuns do gênero *Equisetum* [17].

3.2 Usos Medicinais, Preparações e Doses

Na Medicina Ayurvédica, a *E. arvense* é tradicionalmente usada para o tratamento de inflamação e hipertrofia da próstata, incontinência urinária e enurese noturna de crianças [18]. Nicholas Culpepper, botânico inglês do século XVII, utilizava o sumo ou a decocção para conter hemorragias, para o tratamento de úlceras, feridas e inflamações da pele, litíase urinária e cistite [6].

Os usos aprovados pela legislação de diversos países baseiam-se na longa história de uso na medicina tradicional, em estudos etnofarmacológicos, investigações fitoquímicas e em estudos farmacológicos [6].

O relatório publicado pelo Comitê Sobre Produtos à Base de Plantas Medicinais (HMPC), da Agência Médica Europeia (EMA) dá suporte para a utilização da *E. arvense*, por via oral, para promover a função renal de eliminação; em edemas pós-traumáticos e de estase; nas terapias de irrigação nas doenças bacterianas e inflamatórias do trato urinário baixo e nos cálculos urinários nos rins e bexiga [1].

A Comissão-E Alemã aprovou o uso da *E. arvense* como droga vegetal, em dose média diária de 3 a 6 g divididas em duas a três tomadas, para o tratamento de edemas pós-traumáticos e estáticos; como diurético em caso de afecções bacterianas e inflamatórias das vias urinárias com presença de sedimento urinário [19]. Para uso externo, sob a forma de decocção (50 g/L) a ser aplicada em compressas ou banhos ou o extrato fluido na dose de 50 gotas diluídas em água como coadjuvante no tratamento das feridas de difícil cicatrização [1, 6,20]. No caso do extrato seco, a EMA recomenda a dose de 200 a 225 mg, 3 ou 4 vezes ao dia [1].

No Brasil, a RDC N°10 da ANVISA, recomenda *E. arvense* sob a forma de droga vegetal, para a preparação de infusões e decocções, na proporção de 3 g/150 mL de água, 2 a 4 vezes ao dia, para o tratamento de edemas (inchaços) por retenção de líquidos [4].

3.3 Toxicidade, Contraindicações e Efeitos Adversos

A DL50 de um extrato de *E. arvense* administrado por via intraperitoneal (i.p.) em ratos foi > 1000 mg/kg [17]. Outros estudos mostraram que o extrato hidroalcoólico da *E. arvense*, nas doses de 2 e 5 g/kg (i.p.) em ratos, induziu mortalidade em 12% e 37,5% dos animais, respectivamente. Como a DL50 foi maior que 5 g/kg, o extrato foi considerado atóxico [21,22]. Nenhuma toxicidade foi detectada em relação aos sinais clínicos, hematológicos, urinários, bioquímicos séricos, de massa corporal e massa dos órgãos internos, quando 0,03% a 3% de extrato hidroalcoólico de *E. arvense* foi adicionado à dieta de ratos machos e fêmeas durante 13 dias [23]. Dos Santos et al. (2005) não observaram toxicidade crônica (8 semanas) ao tratar ratos com o extrato hidroalcoólico dos ramos da *E. arvense* na dose de 50 mg/kg (i.p.) [21]. Na avaliação da hepatotoxicidade aguda em ratos não se detectou alteração anatomopatológica de tecido hepático e nem alteração das enzimas hepáticas [2].

Por analogia com a maioria dos fitoterápicos cujo uso oficial dispensa prescrição médica, a *E. arvense* é contraindicada na gravidez e na lactação, bem como para crianças menores de 12 anos, por falta de estudos de específicos [1,6]. Inferências farmacológicas sugerem que a droga poderia causar uma deficiência da vitamina B1 (tiamina), pela presença da enzima tiaminase entre os seus constituintes químicos [4,24]. Correlações farmacológicas indicam que essa planta não deveria ser utilizada por pessoas com insuficiência renal e cardíaca, pois o seu efeito diurético poderia provocar perda de potássio, o que afetaria de modo especial os portadores de insuficiência cardíaca tratados com digitálicos ou qualquer outra medicação que diminuísse as concentrações do potássio sérico [4,6]. Luengo não recomendou o uso da *E. arvense* em portadores de úlcera gastroduodenal ativa, por considerar que a presença de taninos e de sais e ácidos de silício, entre os constituintes químicos, poderia irritar a mucosa gástrica [25].

Segundo a ANVISA, casos raros de alergia podem ocorrer em pacientes sensíveis aos constituintes químicos de *E. arvense* e o uso abusivo poderia provocar eritema exsudativo, disfagia, cefaleia, tenesmo, perda do apetite e, no caso de altas doses, irritação gástrica e no sistema urinário, devido à presença de nicotina [4]. Foram descritas interações farmacológicas com o lítio e os digitálicos [6,26].

3.4 Atividades Biológicas *in vitro*

3.4.1 Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante de extratos da *E. arvense* preparados com diferentes solventes foi avaliada por várias metodologias, tais como ensaio com o radical 1,1- difenil-2-picrilhidrazila (DPPH), Ressonância de Spin Eletrônico (ESR) e ensaio com inibição do radical óxido nítrico. Os resultados mostraram que diversos extratos apresentaram atividade antioxidante significativa [27, 28, 29, 30, 31, 32, 33,34], sendo que o extrato metanólico expressou a maior capacidade varredora de radicais livres [27].

3.4.2 Atividade Antimicrobiana

Diversos agentes microbianos (bactérias, fungos e vírus) foram usados para avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de extratos de *E. arvense* obtidos com diferente solventes (água, etanol, metanol, diclorometano) e os resultados foram contraditórios. Em estudo recente realizado no Brasil, o extrato glicólico de *E. arvense* apresentou atividade antimicrobiana efetiva contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata* [35]. Estudos conduzidos nos últimos dez anos relataram atividade antibacteriana sobre vários patógenos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Enterococcus faecalis*) [29,36,37]. A

atividade antiviral em cultura de células foi reportada em um estudo de Husson et al. (1986) [38]. Outros estudos, conduzidos nas décadas de 1980 e 1990, não demonstraram qualquer atividade antimicrobiana, antifúngica ou antiviral [1,17,39,40,41]. Todavia, em 2012 um estudo constatou que os extratos hidrometanólicos das partes aéreas da *E. arvense*, apresentaram atividade contra *Staphylococcus aureus* [42].

3.4.3 Atividade Antiagregante Plaquetária

Mekhfi et al. (2004) relataram que o extrato aquoso da *E. arvense* produziu *in vitro* inibição da trombina e da agregação induzida da ADP, indicando uma leve ação inibidora da agregação plaquetária. Os autores sugerem que esse efeito possa estar relacionado, em parte, com os compostos polifenólicos presentes nos extratos [43]. Em outro trabalho foi relatado atividade antitrombina de 38% para o extrato etanólico e 84% para o extrato diclorometânico de *E. arvense* [44].

3.4.4 Atividade Citotóxica

Quanto à atividade citotóxica, diferentes extratos da *E. arvense* produziram inibição do crescimento celular, dependendo da linhagem celular, do tipo de extrato e da concentração utilizada. Um extrato obtido com acetato de etila exibiu efeito antiproliferativo de forma mais proeminente, sem induzir qualquer estimulação do crescimento celular, sobre linhagens de células tumorais humanas (HeLa, HT-29 e MCF7) [27]. Efeito citotóxico dose-dependente sobre células humanas leucêmicas (U937) foi relatado para o extrato aquoso da planta [44]. Uma proteína obtida do extrato bruto da *E. arvense* inibiu o crescimento de: células leucêmicas da linhagem LI210 em 32-55%; células de melanoma da linhagem HMV-I em 31-36% e fibroblastos 3T3 em 6-84% [45]. Estudos realizados com células leucêmicas de ratos (L1210) mostraram 38% de atividade citotóxica para o extrato etanólico e 99% para o extrato diclorometânico de *E. arvense* [46].

3.4.5 Atividade Vasorrelaxante

A atividade vasorrelaxante do ácido dicafeoil-meso-tartárico extraído da *E. arvense* foi pesquisada sobre fragmentos de aorta isolada de ratos. Essa substância provocou uma atividade relaxante lenta diante da contração induzida pela norepinefrina (NE) sobre a aorta com e sem endotélio, mas não afetou a contração induzida por uma alta concentração de potássio (60 mM). Isto sugere que a inibição da vasoconstrição induzida pela NE deveu-se à diminuição do influxo de cálcio do espaço extracelular causada pela NE [47].

3.4.6 Atividade Hepatoprotetora

O composto fenólico (onitina) e o flavonoide (luteolina) isolados do extrato metanólico da *E. arvense* mostraram atividade hepatoprotetora contra a ação citotóxica induzida pela tacrina sobre células Hep G2 obtidas de fígado humano. As ações dessas duas substâncias foram superiores à da silibina, usada como controle, e a proteção induzida pela luteolina foi superior à da onitina. Os compostos demonstraram também atividade antioxidante. Segundo os autores, esses resultados suportam o uso da *E. arvense* no tratamento de hepatite na medicina tradicional [48].

3.4.7 Atividade Remineralizante

Quanto à capacidade de auxiliar no processo de remineralização óssea, um estudo concluiu que o extrato hidrometanólico da *E. arvense* estimulou, *in vitro*, a proliferação de células ósseas da linhagem MG63 [49]. Em outro estudo *in vitro*, concluiu-se que o extrato hidrometanólico de *E. arvense*, aumentou a viabilidade e a proliferação de células osteoblásticas humanas, o que, segundo os autores, sugere um perfil potencialmente interessante no que se refere às estratégias de regeneração óssea [42].

3.5 Atividades Farmacológicas *In Vivo*

3.5.1 Atividade Sobre o Sistema Nervoso Central

Extratos de *E. arvense* obtidos com éter de petróleo, clorofórmico, etanol e água foram avaliados quanto à atividade ansiolítica em ratos. O extrato etanólico (50 e 100 mg/kg) apresentou efeito ansiolítico com menor atividade sedativa quando comparado com o diazepam [50]. Rezaie et al. (2001) concluíram que o extrato hidroalcoólico de *E. arvense* provocou aumento significativo do tempo de sono induzido pela cetamina e apresentou efeito ansiolítico, sedativo e pré-anestésico na dose de 200 mg/kg (i.p.) [14]. No experimento realizado por (SANTOS, et al. 2005), o extrato hidroalcoólico de *E. arvense* apresentou efeitos anticonvulsivantes e sedativos em ratos, nas doses de 200 e 400 mg/kg [21]. Os mesmos pesquisadores verificaram que a administração do extrato hidroalcoólico de *E. arvense* (50 mg/kg, i.p.) a ratos idosos (80 semanas de idade) reverteu os distúrbios cognitivos relacionados à idade, sem nenhum sinal de toxicidade [22].

3.5.2 Atividade Antidiabética

Um estudo realizado por (SAFIYEH, et al. 2007) mostrou que a administração oral dos extratos metanólico, diclorometânico e hexânico de *E. arvense* promoveu atividade anti-hiperglicemiante em ratos diabéticos (induzidos pela estreptozotocina) em diferentes doses (50, 100, 250 e 500 mg/kg⁻¹). Quanto à massa corporal, o grupo tratado com o extrato metanólico apresentou elevação em relação aos outros grupos [51]. Outro estudo, realizado pelo mesmo grupo, corroborou os resultados anteriores e os estudos histológicos revelaram uma regeneração significativa das células beta do pâncreas nos animais tratados com o extrato metanólico da *E. arvense*, após dano celular induzido pela estreptozotocina [52]. Com base nas dosagens de creatinina e microalbumina urinárias, os pesquisadores concluíram que o extrato metanólico de *E. arvense*, administrado em

diferentes doses durante cinco semanas, apresentou efeito de proteção renal [53].

3.5.3 Atividade Analgésica e Anti-inflamatória

Na medicina popular de vários países, a *E. arvense* é largamente usada para o alívio de dores e inflamações [9, 12]. Os efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo do extrato hidroalcoólico da *E. arvense* foram detectados em ratos, utilizando-se modelos químicos de nocicepção, não relacionado ao sistema opioide, especialmente no teste de edema plantar induzido pela carregenina [54].

3.5.4 Atividade na Hiperplasia Benigna da Próstata

Os extratos de *Chimaphila umbellata*, *Populus tremula*, *Pulsatilla pratensis* e *E. arvense* e uma formulação tradicional composta por essas quatro plantas, denominada Eviprostat, utilizada popularmente no Japão e na Alemanha para o tratamento de hipertrofia benigna de próstata (HBP), foram testados *in vitro* e *in vivo* para avaliar efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes. Os pesquisadores verificaram atividades anti-inflamatórias na formulação e nos extratos puros justificando o seu uso terapêutico na HBP [55,56].

3.5.5 Atividade Cicatrizante

O extrato aquoso da *E. arvense* a 5% acelerou a contração das feridas dérmicas em coelhos, mostrando-se mais efetiva que o controles (solução de cloreto de sódio 0,9% e solução de iodo-povidine 10%) após 14 dias de tratamento local [57]. Em outro estudo, unguentos preparados com 5% e 10% de pó das partes aéreas de *E. arvense* apresentaram significativa atividade cicatrizante de feridas dérmicas em ratos. Houve contração da área da ferida de 95,26% (unguento 5%) e 99,96% (unguento 10%), maior

regeneração dérmica e epidérmica, angiogênese e maior espessura do tecido de granulação após 14 dias de tratamento, em comparação com os controles [58].

3.5.6 Atividade Remineralizante

Estudo avaliando o conteúdo e a distribuição de cálcio, magnésio, ferro e cobre em seis espécies de plantas medicinais, incluindo a *E. arvense*, concluiu que uma parte muito pequena desses minerais pode ser potencialmente considerada uma fração biodisponível nas drogas vegetais preparadas por infusão, com administração por via oral [59]. Outro estudo mostrou que a concentração de silício na *E. arvense* é de aproximadamente 5% p/p, enquanto que o silício extraível pela água foi de 0,3% p/p. Os autores concluíram que este mineral não pode ser responsável pelos benefícios atribuídos à *E. arvense* [60].

Todavia, Law e Exley (2001) mostraram a presença de silício em todas as partes da *E. arvense*. Os sítios de deposição do mineral mimetizavam locais e estruturas onde a hemicelulose beta-glucana é encontrada, apontando para a possibilidade de que esse polissacarídeo possa ser uma base para a deposição de silício na *E. arvense*. Essa beta-glucana induziu a formação e precipitação de silício, sugerindo que ela, e talvez outros carboidratos similares, possam ser as moléculas chaves na silicificação biológica [61].

3.5.7 Atividade Antilitiásica

O efeito de sete plantas, entre elas a *E. arvense*, popularmente indicadas para a prevenção da formação cálculos renais foi estudado em ratos. Após administração por via oral de uma infusão preparada com 3 g/L das drogas vegetal, substituindo a água de beber, durante 12 dias, os autores concluíram que os efeitos benéficos dessas plantas sobre a

urolitíase podem ser atribuídos a ações antissépticas e presumidamente à presença de saponinas [62].

3.5.8 Atividade Diurética

Estudos sobre a atividade diurética da *E. arvense*, realizados nas décadas de 30 a 40, foram citados no relatório do Comitê Sobre Medicamentos à Base de Plantas Medicinais (HMPC), da Agência Médica Europeia (EMA), o qual conclui que um efeito diurético leve da *E. arvense* foi observado em três espécies animais: cães, ratos e coelhos [1].

Rebuelta et al. (1978) em um estudo utilizando ratas Wistar, avaliaram o efeito diurético das seguintes preparações de *E. arvense*: infusões, extratos flavônicos em suspensão aquosa, cinzas em suspensão alcoólica (para estudar a possível ação de sais de potássio) e extrato metanólico adicionado de cinzas. As preparações a 2,5% foram administradas por via intragástrica (2 mL/100 g de peso). Comparando-se com a teofilina (padrão) e soro fisiológico (placebo), a *E. arvense* demonstrou efeito diurético leve em todas as preparações testadas [1,63].

Em outro estudo, Bakke e Hillestad (1980) relataram efeitos sobre os cátions urinários e um leve aumento da eliminação hídrica em ratos [64].

3.6 Farmacocinética Pré-clínica

Não foram encontrados dados sobre farmacocinética *in vivo* [1].

3.7 Estudos Clínicos

Um estudo avaliou a utilidade do Eviprostat, nome comercial de uma formulação contendo extratos de *Chimaphila umbellata*, *Populus tremula*, *Pulsatilla pratensis*, *Equisetum arvense* e óleo de gérmen de trigo, no tratamento da HBP. A eficácia clínica dessa formulação foi avaliada pelo IPSS (Escore Internacional de Sintomas Prostáticos) e pelo Escore QOL

(Quality of Life). Os resultados foram comparados com os relatados para outros tratamentos da HBP e concluiu-se que a formulação reduziu a noctúria [55,56].

Apenas um estudo clínico foi encontrado envolvendo apenas a *E. arvense*, e este analisou a eliminação de metabólitos urinários de flavonoides e ácidos hidroxicinâmicos em 11 voluntários que ingeriram uma preparação com extrato bruto de *E. arvense* e que foram submetidos a uma dieta livre de flavonoides por oito dias. Amostras de urina de 24 horas foram colhidas e analisadas por HPLC. Não foram encontrados nas amostras de urina os presumidos metabólitos da quercetina (ácido 3,4-dihidroxifenilacético e 3,4-dihidroxitolueno). A quantidade endógena de ácido homovanílico, geralmente considerado um dos principais metabólitos da quercetina, também não aumentou significativamente. Entretanto, o ácido hipúrico, a glicina conjugada do ácido benzoico, aumentou duas vezes após a ingestão da droga. Os autores afirmam que a degradação dos derivados do ácido benzoico, mais do que dos derivados do ácido fenilacético, parece ser a rota predominante do metabolismo [65].

3.8 Farmacocinética Clínica

Com exceção do trabalho de Graefe e Veit [65], acima mencionado, não foram encontrados outros estudos sobre a farmacocinética da *E. arvense*.

4 DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Avaliando-se os artigos publicados, observou-se que a *E. arvense* é uma planta medicinal de uso milenar, sendo utilizada na medicina tradicional da Índia, China, Grécia e na medicina popular de diversos países. Os dados obtidos deste conhecimento tradicional em conjunto com os estudos científicos realizados desde o início do século XX levaram à sua aprovação como medicamento em diversos países, inclusive o Brasil.

Verificou-se que os trabalhos científicos que suportam a validação da *E. arvense* pela EMEA, pela Comissão-E e pelo Ministério da Saúde do Brasil estão fundamentados no uso tradicional e nos estudos farmacológicos pré-clínicos, os quais demonstram diversas atividades biológicas importantes, a citar, *in vitro*: atividade antioxidante, antimicrobiana, antiagregante plaquetária, citotóxica, vasorrelaxante, hepatoprotetora; e *in vivo*: atividades no Sistema Nervoso Central, na hiperplasia benigna da próstata, atividade antidiabética, analgésica e anti-inflamatória, cicatrizante, remineralizante, antilitiásica e atividade diurética.

Os mesmos critérios valem também para a avaliação da toxicidade e segurança no uso dessa planta. Todavia, o uso tradicional prolongado não exclui necessariamente a possibilidade de existirem fatores desconhecidos em relação à toxicidade da planta. A escassez de trabalhos de toxicologia na literatura pesquisada corrobora o relatório final do Assessor do HMPC/EMEA, que concluiu que os dados toxicológicos sobre a *E. arvense* ainda são insuficientes e recomenda que a droga permaneça classificada como produto de uso tradicional na Europa. Além disso, o mesmo relatório contraindica, por falta de dados de segurança, o uso por crianças menores de 12 anos, durante a gravidez e lactação, e em pacientes que sofrem de patologias que exigem restrições de líquidos (insuficiência cardíaca ou renal) [1].

Na revisão da literatura, não foram encontrados estudos clínicos que dessem suporte à indicação da *E. arvense* como diurético, bem como estudos sobre o mecanismo de ação dos seus extratos. Faz-se necessário considerar que os diuréticos são drogas que reduzem a reabsorção normal de solutos do ultrafiltrado glomerular ao longo dos néfrons. Eles induzem a perda desses solutos, com conseqüente perda de água, e reduzem o volume de líquidos extracelulares, sendo primariamente usados para produzir um balanço líquido extracelular negativo [1, 66]. Tendo-se isto em conta, pode-se concluir que os dados sobre os aspectos farmacocinéticos e sobre a efetividade da *E. arvense* não são suficientes para demonstrar um mecanismo de ação diurética com balanço líquido extracelular negativo. Tal ausência de pesquisas clínicas sobre a eficácia diurética de fitoterápicos à

base de *E. arvense*, segundo o levantamento bibliográfico, coincide com a restrição das indústrias farmacêuticas em desenvolverem e registrarem novos produtos contendo esta planta.

Conclui-se, então, que apesar da sua longa tradição e de várias pesquisas *in vitro* e *in vivo*, os produtos à base da *E. arvense* ainda não preenchem os requisitos para um uso médico bem estabelecido, com base em eficácia comprovada e nível de segurança aceitável. Apesar disso, pelo seu uso milenar e quase cosmopolita, e com base nas pesquisas existentes, a *E. arvense* pode ser classificada como um remédio de uso tradicional e popular, cujos usos devem ser regulamentados e cujas pesquisas (incluindo as de fase IV e as pesquisas de farmacovigilância) necessitam ser incentivadas.

REFERÊNCIAS

- [1] European Medical Agency - EMEA. Committee on Herbal Medicinal Products. List of References Supporting the Assessment Report on: *Equisetum arvense*. London: European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use 2008; p.1-41.
- [2] Baracho NC, Vicente BB, Arruda GD, Sanches BC, Brito J. Study of acute hepatotoxicity of *Equisetum arvense* L. in rats. *Acta Cir Bras* 2009; 24: 449-453.
- [3] Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS / RENISUS de 2009. Ministério da Saúde. Divisão de Assistência Farmacêutica / Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Especiais. Available from: URL: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS_2010.pdf.
- [4] Notificações de Drogas Vegetais junto à ANVISA de 2010. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC N°10, de Março de 2010. Available from: URL: <http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/103202-10>.
- [5] Bulário Eletrônico de 2012. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Available from: URL: <http://www4.anvisa.gov.br/BularioEletronico/default.asp>.
- [6] Pérez JCG, Aguilar MLE, Campos AG. Importancia etnobotánica de una planta vascular sin semilla en México: *Equisetum*. *Polibotânica* 2006; 21:61-74.
- [7] Jermy AC, Page CN, Acock PJ. *Plant Crib*. Londres: Botanical Society of British Isles /National Museum & Galleries of Wales 1998; p.1-7. Available from: URL: <http://www.bsbi.org.uk/Equisetum.pdf>.
- [8] Alves IC, Freitas TMB, Luna AF, Luz EWM. Atividade antioxidante do chá da *Equisetum arvense* L. *in*: IV CONNEPI. Belém, Pará. Brasil, 2009.
- [9] Sandhu NS, Kaur S, Chopra D. *Equisetum arvense*: Pharmacology and phytochemistry - a review. *Asia Pac J Pharmacol* 2010; 3: 146-150.
- [10] Sandhu NS, Kaur S, Chopra D. Pharmacognostic evaluation of *Equisetum arvense* L. *Int J Pharm Tech Res* 2010; 2: 1460-1464.
- [11] Wagner H, Bladt S. *Plant Drug Analysis - a Thin Layer Chromatography Atlas*. 2a Ed. Berlin: Springer; 2001. P. 364.

- [12] Asgarpanah J, Roohi E. Phytochemistry and pharmacological properties of *Equisetum arvense* L. J Med P Res 2012 Jun 1; 6(21): 3689-3693.
- [13] D'Agostino M, Dini A, Pizza C, Senatore F, Aquino R. Sterols from *Equisetum arvense*. Boll Soc Ital Biol Sper 1984; 60:2241-2245.
- [14] Rezaie A, Ahmadizadeh C, Mosavi G, Nazeri M, et al. Comparative study of sedative, pre-anesthetic and anti-anxiety effect of *Equisetum arvense* (horse Tail) extract with diazepam on rats. ABJAS Journal 2011; 5:786-789.
- [15] Gallo FR, Multari G, Federici E, Palazzino G, Giambenedetti M, Petitto V, Poli F, Nicoletti M. Chemical fingerprinting of *Equisetum arvense* L. using HPTLC densitometry and HPLC. Nat Prod Res 2011; 25(13):1261-1270.
- [16] Durón R-R, Almaguer LC, Garza-Juárez AJ, Cavazos MLS, Waksman-de-Torres N. Development and Validation of Thin-Layer Chromatographic Methods for Quality Control of Herbal Products. Acta Chromatogr 2009; 21:203-215.
- [17] Brune T, Thiv M, Haas K. *Equisetum* (*Equisetaceae*) species or hybrids? ISSR fingerprinting profiles help improve diagnoses based on morphology and anatomy. Plant Syst Evol 2008; 274:67–81.
- [18] Jain R, Kosta S, Tiwari A. Ayurveda and Urinary Tract Infections. J Young Pharm 2010; 2(3): 337.
- [19] Blumenthal M, Editor. The Compleat German Commission E Monographs – Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Boston: The American Botanical Council. 1998. P .150-151.
- [20] Aswal BS, Bhakuni DS, Goel AK, Kar K, Mehrotra BN. Screening of Indian Plants for Biological Activity: Part XI. Indian J Exp Bio 1984; 22 (9):487-504.
- [21] Dos Santos JG Jr, Blanco MM, Do Monte FH, Russi M, et al. Sedative and anticonvulsant effects of hydroalcoholic extract of *Equisetum arvense*. Fitoterapia 2005; 76(6):508-513.
- [22] Dos Santos JG Jr, Do Monte FH, Blanco MM, Lanziotti VM, et al. Cognitive enhancement in aged rats after chronic administration of *Equisetum arvense* L. with demonstrated antioxidant properties in vitro. Pharmacol Biochem Behav_ 2005; 81(3):593-600.
- [23] Tago Y, Wei M, Ishii N, Kakehashi A, Wanibuchi H. Evaluation of the Subchronic Toxicity of Dietary Administered *Equisetum arvense* in F344 Rats. J Toxicol Pathol 2010; 23(4):245-251.

- [24] Contraindicações do uso de plantas medicinais de 2002. Resolução SES/RJ Nº 1757 de fevereiro de 2002. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro. Available from: URL: <http://www.ibama.gov.br/flora/resolucoes/1757-02.pdf>.
- [25] Luengo MTL. Fitoterapia - Plantas medicinales con acción diurética. Available from: URL: <http://www.doymafarma.com>. 2010.
- [26] Pyevich D, Bogenschutz MP. Herbal diuretics and lithium toxicity. *Am J Psychiatry* 2001;158:1329-1329.
- [27] Cetojevic-Simin DD, Canadanovic-Brunet JM, Bogdanovic GM, Djilas SM, et al. Antioxidative and antiproliferative activities of different horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *J Med Food* 2010; 13(2):452-459.
- [28] Mimica-Dukic N, Simin N, Cvejic J, Jovin E, et al. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. *Molecules* 2008; 13(7):1455-1464.
- [29] Milovanović V, Radulović N, Todorović Z, Stanković M et al. Antioxidant, antimicrobial and genotoxicity screening of hydro-alcoholic extracts of five serbian *Equisetum* species. *Plant Foods Hum Nutr* 2007; 62(3):113-119.
- [30] Stajner D, Popović BM, Canadanović-Brunet J, Boza P. Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruska gora mountain. *Fitoterapia* 2006; 77(7-8):601-604.
- [31] Stajner D, Popović BM, Canadanović-Brunet J, Anackov G. Exploring *Equisetum arvense* L., *Equisetum ramosissimum* L. and *Equisetum telmateia* L. as sources of natural antioxidants. *Phytother Res* 2009; 23(4):546-550.
- [32] Nagai T, Myoda T, Nagashima T. Antioxidative activities of water extract and ethanol extract from field horsetail (*tsukushi*) *Equisetum arvense* L. *Food Chem* 2005; 91:389-394.
- [33] Myagmar BE, Aniya Y. Free radical scavenging action of medicinal herbs from Mongolia. *Phytomedicine*. 2000; 7(3): 221- 229.
- [34] Da Silva WS, Do Carmo DR. Comportamento voltamétrico do ácido ascórbico em presença da erva *Equisetum arvense*. 2009. Available from: URL: http://prope.unesp.br/xxi_cic/27_35011891844.pdf.
- [35] Castro VC, Oliveira JR, Vilela PGF, Carvalho CAT, Rocha RF, Jorge AOC et al. Efeito microbicida do extrato glicólico de *Equisetum arvense* L. (cavalinha) sobre *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus*

mutans e *Candida spp.*. In: XV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e XI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. Universidade do Vale do Paraíba; 2011; São José dos Campos. São Paulo. Brasil.

- [36] Geetha RV, Lakshmi T, Roy A. In vitro evaluation of anti bacterial activity of *Equisetum arvense* Linn on urinary tract pathogens. Int J Pharm Sci 2011; 3 (4):323-325.
- [37] Radulovic N, Stojanovic G, Palic R. Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. Phytotherapy Res 2006; 20:85–88.
- [38] Husson GP, Vilagines R, Delaveau P. Research into the antiviral properties of a few natural extracts. Ann Pharm Fr 1986; 44 (1):41-48.
- [39] Heisey RM, Gorham BK. Antimicrobial Effects of Plant Extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* and other Micro-Organisms. Lett Appl Microbiol 1992; 14 (4):136-139.
- [40] Guerin JC, Reveillere HP. Antifungal Activity of Plant Extracts in Therapy. I. Study of 41 Extracts against 9 Fungal Species. Ann Pharm Fr 1984; 42 (6):553-559.
- [41] Suganda AG, Amoros M, Girre L, Fauconnier B. Inhibitory Effects of Some Crude and Semi-Purified Extracts of Plants Indigenous to France on the Replication of Human Herpes Virus 1 and Human Poliovirus 2 in Cell Culture. J Nat Prod 1983; 46 (5):626-632.
- [42] Bessa PC, Gomes PS, Costa RJ, Almeida PR, Vieira L, Ferraz MP, et al. *Equisetum arvense* hydromethanolic extracts in bone tissue regeneration: in vitro osteoblastic modulation and antibacterial activity. Cell Prolif 2012; 45(4):386-396.
- [43] Mekhfi H, Haouari ME, Legssyer A, Bnouham M, et al. Platelet anti-aggregant property of some Moroccan medicinal plants. J Ethnopharma-col 2004; 94(2-3):317-322.
- [44] Goun EA, Petrichenko VM, Solodnikov SU, Suhinina TV et al. Anticancer and antithrombin activity of Russian plants. J Ethnopharmacol 2002; 81 (3):337-342.
- [45] Yamamoto Y. Antitumor activity of crude protein extracted from *Equisetum arvense* L. J Anal Bio-Sci 1999; 22(5):421-424.
- [46] Alexandru V, Petrusca DN, Gille E. Investigation of pro-apoptotic activity of *Equisetum arvense* L. water extract on human leukemia U 937 cells. Rouman Biotech Lett 2007; 12(2): 3139-3147.

- [47] Sakurai N, Iizuka T, Nakayama S, Funayama H, et al. Vasorelaxant activity of caffeic acid derivatives from *Cichorium intybus* and *Equisetum arvense*. *Yakugaku Zasshi* 2003; 123(7):593-598.
- [48] Oh H, Kim DH, Cho JH, Kim YC. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *J Ethnopharmacol* 2004;95(2-3):421-424.
- [49] Ferraz MP, Pereira AC, Lopes MA, Fernandes MH. *Equisetum arvense*: Avaliação das possibilidades de aplicação na regeneração óssea. *Rev Fac Ciênc Saúde* 2008; 5:136-145.
- [50] Singh N, Kaur S, Bedi PM, Kaur D. Anxiolytic effects of *Equisetum arvense* Linn extracts in mice. *Indian J Exp Biol* 2011; 49(5):352-356.
- [51] Safiyeh S, Fathallah FB, Vahid N, Hossine N, Habib SS. Antidiabetic effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in streptozotocin-induced diabetes in male rats. *Pak J Biol Sci* 2007; 10(10):1661-1666.
- [52] Safiyeh S, Azarbaizani FF, Nejati V. The effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in histological changes of pancreatic beta-cells in streptozotocin-induced diabetic in rats. *Pak J Biol Sci* 2007; 10(23):4236-4240.
- [53] Safiyeh S, Fathallah FB, Vahid N, Habib SS, Nabat N. Effect of *Equisetum arvense* L. (*Equisetaceae*) in microalbuminuria and creatinine excretion streptozotocin-induced diabetes in male rats. *Int J Pharmacol* 2007; 3(2):155-159.
- [54] Do Monte FH, Dos Santos JG Jr, Russi M, Lanziotti VM, Leal LK, Cunha GM. Antinociceptive and anti-inflammatory properties of the hydroalcoholic extract of stems from *Equisetum arvense* L. in mice. *Pharmacol Res* 2004; 49(3):239-243.
- [55] Oka M, Tachibana M, Noda K, Inoue N, et al. Relevance of anti-reactive oxygen species activity to anti-inflammatory activity of components of Eviprostat, a phytotherapeutic agent for benign prostatic hyperplasia. *Phytomedicine* 2007;14(7-8):465-472.
- [56] Tamaki M, Nakashima M, Nishiyama R, Ikeda H, et al. Assessment of clinical usefulness of Eviprostat for benign prostatic hyperplasia--comparison of Eviprostat tablet with a formulation containing two-times more active ingredients. *Hinyokika Kyo* 2008; 54(6):435-445.
- [57] Hayat A, Temamogullari F, Yilmaz R, Karabulut O. Effect of *Equisetum arvense* on Wound Contraction of Full-Thickness Skin Wounds in Rabbits. *J. Animal Veterinary Adv* 2011; 10: 81-83.

- [58] Ozay Y, Ozyurt S, Guzel S, Cimbiz A, et al. Effects of *Equisetum arvense* ointment on dermal wound healing in rats. *Wounds* 2010; 22 (10): 261-267.
- [59] Raczuk J, Biardzka E, Daruk J. The content of Ca, Mg, Fe and Cu in selected species of herbs and herb infusions. *Rocz Panstw Zakl Hig* 2008; 59(1):33-40.
- [60] Bye R, Thingstad SF, Paulsen BS. Horsetail (*Equisetum spp.*) as a source of silicon supplement in human nutrition - a myth? *J Herb Spices Med Plant* 2010; 16 (2): 119-125.
- [61] Law C, Exley C. New insight into silica deposition in horsetail (*Equisetum arvense*). *BMC Plant Biology* 2011; 11:112.
- [62] Grases F, Melero G, Costa-Bauzá A, Prieto R. Urolithiasis and phytotherapy. *Int Urol Nephrol* 1994; 26(5):507-511.
- [63] Rebuella M, San Roman L. Estudio Del Efecto Diurético de: *Equisetum arvense* L., *Bidens aurea* Aiton Sherff., *Microme fruticosa* L., *Spergularia rubra* L., *Cynod dactylon* L. *Anal Inst Bot* 1978; 34:703-714.
- [64] Franck Bakke IL; Hillestad B. The diurétic effect of *Equisetum arvense* in Rats. *Medd. Norsk Farm Selsk* 1980; 42:9-14.
- [65] Graefe EU, Veit M. Urinary metabolites of flavonoids and hydroxycinnamic acids in humans after application of a crude extract from *Equisetum arvense*. *Phytomedicine* 1999; 6(4):239-246.
- [66] Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. 11ª Edição. Saunders Elsevier. 2006.

4.2 Artigo 2

Ensaio clínico duplo-cego randomizado para avaliar o efeito diurético da *Equisetum arvense* (cavalinha) em voluntários sadios.

Danilo Maciel Carneiro^{1,2}, Ramias Calixto Freire¹, Tereza Cristina de Deus Honório¹, Iury Zoghaib¹, Fabiana Fernandes Cardoso⁴, Leonice Manrique F. Tresvenzol⁵, José Realino de Paula⁵, Paulo César Brandão Veiga Jardim⁶, Luiz Carlos da Cunha¹

¹ NEPET- UFG – Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (Faculdade de Farmácia – UFG)

² Hospital de Medicina Alternativa – Secr. de Estado da Saúde de Goiás – SUS-GO

³ Centro de Análises Clínicas Rômulo Rocha – Faculdade de Farmácia – UFG

⁴ Instituto de Ciências Farmacêuticas – ICF – Goiânia-GO

⁵ Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Goiás

⁶ Professor Associado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás. Coordenador Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde da UFG. Coordenador da Liga de Hipertensão Arterial da FM/HC/UFG.

Correspondência:

Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET-UFG)-Sala 36- Faculdade de Farmácia/UFG-Av. Universitária com 1a. Avenida, s/n-Setor Universitário-CEP: 74525-030 - Goiânia - GO.

Tel/fax: (+5562) 3521- 1821 / 3209-6044

E-mail: lucacunha@gmail.com

RESUMO

Este ensaio clínico duplo-cego randomizado distribuiu aleatoriamente 36 voluntários sadios do sexo masculino em 6 grupos (n=6) que se submeteram a 3 etapas de intervenção. Administrou-se alternadamente, por 4 dias seguidos, um extrato seco de *Equisetum arvense* (900 mg/dia), placebo (900 mg) ou hidroclorotiazida (25 mg/dia), separados por 10 dias de *wash out*. O efeito diurético foi avaliado pelo balanço hídrico de 24 h e dosagens séricas de eletrólitos. Cada voluntário atuou como controle de si mesmo e foram comparados os resultados entre os três grupos. Somente foram incluídos voluntários com exames médico, bioquímicos e ECG normais. Repetiu-se a mesma avaliação após cada etapa de intervenção, o que serviu para avaliar a segurança de uso da droga. Os dados foram submetidos ao Teste t de Student pareado e ao Teste t de Student para dados independentes. A *E. arvense* demonstrou efeito diurético superior ao placebo e equivalente à hidroclorotiazida (25 mg), sem alterações significativas na eliminação de eletrólitos. Não houve aumento significativo na eliminação de catabólitos urinários. Raros eventos adversos menores foram relatados. Todos os parâmetros laboratoriais estiveram dentro das suas respectivas faixas de normalidade. Os exames clínicos, eletrocardiográficos e laboratoriais não evidenciaram alterações antes e depois do experimento, sugerindo que a droga é segura no uso agudo. Outras pesquisas são necessárias para melhor esclarecimento do mecanismo de ação diurética, bem como de outras possíveis ações farmacológicas deste fitomedicamento.

Palavras-chave: Fitoterapia. Plantas medicinais. *Equisetum arvense*. Medicina Tradicional. Etnofarmacologia.

ABSTRACT

This double-blind randomized clinical trial randomly distributed 36 male healthy volunteers in 6 groups (n = 6) who underwent a 3 steps treatment. We have given alternately for 4 days in a row, a dry extract Equisetum arvense (900 mg/day), placebo (corn starch) or hydrochlorothiazide (25 mg/day), separated by 10 days of wash out. Each volunteer was control of himself, in addition to a comparison among the 3 group's results. Were included only volunteers with normal medical examinations, biochemical tests and ECG. We repeated the same evaluation after each stage of treatment, which served to evaluate the safety of use of the drug as well. The diuretic effect was assessed by the 24 h water balance and serum electrolytes dosages. Data were submitted to the Paired Student's t-Test and Student's t-Test for independent data. E. arvense extract demonstrated higher diuretic effect than the negative control and equivalent to hydrochlorothiazide (25 mg), without significant changes on elimination of electrolytes. There was no significant increase in urinary elimination of catabolites. Rare minor adverse events

were reported. All laboratory parameters were within their respective tracks of normality. Clinical examinations, laboratory tests and electrocardiogram showed no changes before and after the experiment, suggesting that the drug is safe in acute use. Further researches are needed to better clarification of the mechanism of diuretic action, as well as other possible pharmacological actions of this phytomedicine.

Keywords: Phytotherapy. Medicinal plants. *Equisetum arvense*. Traditional Medicine. Ethnopharmacology.

1 INTRODUÇÃO

Observa-se nos dias atuais um crescente interesse em relação aos produtos fitoterápicos, inclusive na América do Norte e na Europa [1]. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), os tratamentos com plantas medicinais são altamente lucrativos no mercado internacional. Mais de 100 países têm regulações para esses medicamentos. O lucro anual na Europa Ocidental chegou a US\$ 5 bilhões em 2003-2004. Na China as vendas totalizaram US\$ 14 bilhões em 2005 e no Brasil os lucros foram de R\$ 1,1 bilhão em 2011 [2,3]. Dentre estas plantas medicinais, destaca-se a *Equisetum arvense* L., pertencente à família *Equisetaceae*, popularmente conhecida no Brasil como “cavalinha” e como “horsetail” na América do Norte e Europa. É uma planta encontrada nas Américas [4,5], Europa [4,6] e no norte da África e da Ásia [4,7]. Tradicionalmente é empregada como diurético, antiedematosa, anti-inflamatória e remineralizante [8, 9,10].

Estudos fitoquímicos das partes aéreas da *Equisetum arvense* demonstraram, entre outros componentes, flavonoides, saponídeos, ácido cafeico, compostos fenólicos, alcaloides, esteróis e minerais, principalmente silício e sais potássicos. Infere-se que, pela concentração elevada em flavonoides, compostos fenólicos e sais minerais, a droga vegetal apresentaria ação diurética suave. E que pela abundância de sais de silício, possuiria propriedades remineralizantes [11,12].

Pesquisas pré-clínicas revelaram diversas ações farmacológicas, destacando-se a atividade antioxidante [11,13] e a ação antidiabética

[14,15]. Baracho et al. (2009) relataram ausência de hepatotoxicidade aguda [16].

A Comissão E Alemã, formada desde 1974 por órgãos reguladores sanitários da República Federativa da Alemanha, aprovou o uso da *Equisetum arvense* para o tratamento de edemas pós-traumáticos e estáticos, como diurético em caso de afecções bacterianas e inflamatórias das vias urinárias com presença de sedimentos urinários [8]. Para uso externo, existem citações do seu emprego como coadjuvante no tratamento das feridas de difícil cicatrização [8, 17,18]. Apesar da tradição milenar, a *E. arvense* ainda não preenche os requisitos para um uso medicinal bem estabelecido. Ainda faltam estudos clínicos sobre o efeito diurético, a sua segurança e seus efeitos na função renal. A Agência Médica Europeia, em seu programa de “Avaliação de Medicamentos para Uso Humano”, afirma ainda que os dados clínicos sobre a absorção, distribuição e farmacocinética da *Equisetum arvense* são escassos ou mesmo ausentes [8,19].

O objetivo deste estudo foi avaliar, por meio de um ensaio clínico duplo-cego randomizado, a atividade diurética e a segurança à curto prazo do uso, em homens saudáveis, de um extrato seco padronizado das partes aéreas da *Equisetum arvense*. Analisou-se o efeito deste extrato sobre o balanço hídrico (BH) e a excreção de catabólitos urinários, além de possíveis efeitos tóxicos sobre a função hepática, renal e cardíaca. Os efeitos da droga foram comparados com um placebo (amido) e com um diurético consagrado, a hidroclorotiazida.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais de Estudo

O extrato seco padronizado das partes aéreas *E. arvense* com 0,026% de flavonoides totais; a hidroclorotiazida e o placebo (amido) foram manipulados, com certificados de análise e garantia de qualidade, junto à Farmácia Artesanal, uma farmácia magistral, devidamente autorizada e

certificada pelos órgãos de regulação oficiais da cidade de Goiânia. A autenticidade da amostra de *E. arvense* utilizada nesse experimento foi avaliada pelo Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) da Faculdade de Farmácia da UFG por meio de cromatografia de camada delgada, de acordo com metodologia descrita por Wagner e Bladt (2001) [20].

As cápsulas contendo as substâncias testes eram idênticas e foram acondicionadas em frascos rotulados com as letras A, B e C, código definido por um dos pesquisadores e mantido em segredo até o fim das análises estatísticas.

2.2 Seleção de Voluntários

O ensaio clínico seguiu as diretrizes da Resolução 196/96 do CNS e da Declaração de Helsinki para a pesquisa em humanos e o protocolo foi aprovado, sob o n. 312/10, pelo Comitê de Ética em Pesquisa UFG, credenciado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa do Conselho Nacional de Saúde/ Ministério da Saúde.

Os voluntários assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) conferindo aos pesquisadores o direito de realizar no material coletado, testes para confirmação do correto uso dos medicamentos constantes do protocolo experimental.

A seleção e captação dos voluntários foram feitas pelo Departamento de Recrutamento do ICF, a partir de um banco de voluntários da instituição, devidamente orientados em relação à importância da correção e fidelidade na coleta dos dados e em cujas fichas constavam exames bioquímicos de triagem normais, realizados até 3 meses antes do início do experimento.

Foram selecionados 36 voluntários sadios do sexo masculino, com idades entre 20 e 55 anos, altura 1,50 – 1,85m e peso 50 – 90 kg, com base na história médica, história medicamentosa, exames físicos, sinais vitais e resultados dos exames laboratoriais.

Foram excluídos indivíduos fumantes ou portadores de insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão arterial ou outras doenças de base, bem como indivíduos com o histórico de doença renal, doenças cardiovasculares ou distúrbios endócrinos.

Outros critérios de exclusão foram utilizados durante o experimento, entre os quais se destacam o não seguimento do protocolo corretamente em qualquer fase do experimento ou o aparecimento de reações inesperadas ou exacerbadas.

2.3 Protocolo Experimental

Os 36 voluntários (1 a 36) foram alocados randomicamente para 6 sequências de administração (n=6), seguindo o delineamento proposto por Williams, indicado para que as possíveis diferenças entre as intervenções medicamentosas pudessem ser detectadas [21]. Os voluntários passaram por três etapas de tratamento, nas quais se revezaram para receber uma das três intervenções propostas: *Equisetum arvense*, hidroclorotiazida ou placebo. Cada intervenção foi aplicada por 4 dias em cada uma das etapas, sendo separadas por um período de 10 dias de *wash out*. Em cada etapa de intervenção, todos os voluntários tomaram uma cápsula três vezes ao dia, seguindo-se então um período de *washout*, no qual os voluntários não receberam intervenção alguma, mas continuaram sob orientações quanto à dieta e aos hábitos de vida. Todos os voluntários passaram pelos três tipos de intervenção, atuando como controle de si mesmos. O esquema de intervenção foi repetido nas mesmas condições metodológicas nas três etapas do experimento (Quadro 1).

Quadro 1 - Sequências de administração dos medicamentos do estudo.

	ETAPA				
	PRIMEIRA		SEGUNDA		TERCEIRA
	Intervenção 4 dias	10 dias	Intervenção 4 dias	10 dias	Intervenção 4 dias
Seq. 1	A (n=6)	Wash out	B (n=6)	Wash out	C (n=6)
Seq. 2	C (n=6)	Wash out	A (n=6)	Wash out	B (n=6)
Seq. 3	B (n=6)	Wash out	C (n=6)	Wash out	A (n=6)
Seq. 4	C (n=6)	Wash out	B (n=6)	Wash out	A (n=6)
Seq. 5	B (n=6)	Wash out	A (n=6)	Wash out	C (n=6)
Seq. 6	A (n=6)	Wash out	C (n=6)	Wash out	B (n=6)

2.3.1 Divisão dos dias das Etapas de Experimento

O dia zero foi o dia anterior ao início da intervenção, em cada etapa. Os dias 1, 2, 3 e 4 corresponderam aos dias de intervenção propriamente dita, após o qual se seguiram os 10 dias de *wash out*. O décimo dia de *wash out* correspondia ao dia zero da etapa seguinte.

No dia zero e nos quatro dias de intervenção, em cada etapa, os voluntários anotaram os balanços hídricos das 24 h. No dia zero e no dia seguinte ao término da intervenção, em cada etapa, os voluntários submeteram-se a avaliação médica e realizaram os exames laboratoriais constantes do protocolo.

2.4 Intervenções Medicamentosas

Todas as intervenções foram apresentadas de forma idêntica (cápsulas gelatinosas nº zero). Os voluntários receberam, em cada etapa, dois frascos contendo a intervenção correspondente e numerados como Frasco 1 e Frasco 2. O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis, a serem tomadas uma vez ao dia pela manhã. O Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, a serem tomadas duas vezes ao dia. Cada intervenção durou quatro dias em cada etapa. As cápsulas foram entregues aos voluntários na Unidade de Pesquisa Clínica do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF), seguindo uma ordem randomizada, sendo:

- **Intervenção A** (*Equisetum arvense*): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, todas com 300 mg de *E. arvense* (extrato seco com 0,026% de flavonoides totais). A dose diária foi de 900 mg, seguindo a posologia de uma cápsula 3 vezes ao dia.

- **Intervenção B** (Hidroclorotiazida): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis com 25 mg de hidroclorotiazida e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, com 300 mg de amido (placebo). A dose diária de hidroclorotiazida foi de 25 mg, em dose única pela manhã e mais duas doses de placebo ao dia.

- **Intervenção C** (Amido): O Frasco 1 continha 4 cápsulas azuis e o Frasco 2 continha 8 cápsulas verdes, todas com 300 mg de amido. A posologia foi uma cápsula 3 vezes ao dia.

2.5 Exames Laboratoriais

Todos os voluntários submeteram-se a exames de sangue (hemograma completo e dosagens de glicose de jejum, albumina, TGO, TGP, Gama GT, bilirrubina total, bilirrubinas direta, bilirrubina indireta, ureia,

creatinina, sódio, potássio, cloro, fósforo e magnésio) e urina (EAS, sódio e potássio).

As coletas de sangue e urina foram feitas na Unidade de Pesquisa Clínica do ICF, por farmacêuticos do Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas da Universidade Federal de Goiás (NEPET-UFG), sendo as amostras adequadamente acondicionadas e transportadas ao Laboratório Rômulo Rocha da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, onde foram realizadas as análises. Ressalta-se que as amostras foram colhidas exclusivamente no dia anterior ao início e no dia seguinte ao fim da intervenção medicamentosa, em cada etapa do experimento.

Todos os voluntários submeteram-se a dois eletrocardiogramas: um realizado antes do início das intervenções e outro imediatamente após o fim do experimento.

2.7 Avaliações Médicas e Prescrição da Intervenção

Foram realizadas no Ambulatório da Unidade de Pesquisa Clínica do ICF. Inicialmente foi feita anamnese completa de cada voluntário, seguindo um protocolo, através de Ficha Clínica Ambulatorial. Posteriormente procedeu-se uma avaliação clínica em cada etapa, antes e após a administração das intervenções, com registro de manifestações clínicas em geral, possíveis reações adversas e exame físico.

2.6 Atividades Durante a Fase Experimental

Antes do início da fase experimental, os voluntários receberam as orientações sobre hábitos de vida em geral, dieta e atividades físicas. Durante o experimento foi solicitado aos voluntários não efetuar modificações nos seus hábitos alimentares, não consumir drogas, bebidas alcoólicas e ou bebidas com efeito diurético (café, chás). Também foram orientados a manter as suas atividades físicas usuais e suas rotinas

normais, devendo ser evitada a realização de exercícios mais intensos ou prolongados do que habituais.

2.8 Registro de Líquidos Ingeridos e Urinados e Balanço Hídrico

Os voluntários receberam, para uso contínuo durante o experimento, uma mochila com dois compartimentos separados para conter, de forma higiênica, um copo graduado (para medida de líquidos ingeridos), um frasco-medidor de urina (com tampa), uma caderneta e uma caneta para registro do volume de líquidos ingeridos e do volume urinado. Todos assinaram um termo de recebimento do material e de compromisso de seguimento das orientações recebidas. Do dia zero ao dia 04, o volume de líquidos ingeridos foi anotado após cada ingestão e o volume urinado foi registrado após cada micção. Estes dados serviram de base para o cálculo do balanço hídrico (BH).

Desta forma, o BH refletiu a diferença entre o volume de líquidos ingeridos e o volume urinado nas 24 horas e foi medido desde a primeira micção após acordar pela manhã até a última micção antes de levantar-se na manhã do dia seguinte [22].

2.9 Avaliação do Efeito Diurético

O efeito diurético foi avaliado com base nos seguintes critérios:

a) Avaliação do BH Final por Grupo: O BH Final consiste na diferença entre o BH Pós-intervenção e o BH do dia zero (BH0).

Assim: $BH \text{ Final} = BH \text{ Pós-intervenção} - BH0$

b) Comparação entre Grupos: comparação entre dos BHs Finais dos Grupos entre si.

c) Avaliação intragrupo: Avaliação dos BH Finais em cada um dos Grupos.

d) Avaliação das intervenções efeito sobre as medidas urinárias de eletrólitos comparando-se a medida do dia 4 em relação à medida do dia zero, em cada etapa de intervenção.

2.10 Avaliação da Segurança de uso

2.10.1 Relato de Eventos Adversos

Os voluntários foram orientados a relatar todos os sintomas observados, bem como o eventual o uso de qualquer medicação de urgência. Os eventos adversos relatados durante o ensaio clínico foram registrados pelo investigador na ficha de acompanhamento clínico, que seguiu um modelo de *Case Report Form* (CRF). Os sintomas relatados foram classificados, quanto à intensidade, em: leves, moderados e severos [23].

2.10.2 Exames Complementares

Investigação sobre possíveis efeitos tóxicos agudos envolvendo as funções hepática, renal, sanguínea e cardíaca, foi realizada por meio dos exames clínicos e complementares, antes e após as intervenções, em cada uma das três etapas. O eletrocardiograma foi realizado no início e no fim do experimento.

2.11 Controle Metodológico

Para se reduzir e monitorar os parâmetros não controlados, tais como a ingestão de líquidos, de sódio e de atividades físicas, bem como efeitos de outras drogas, alguns recursos foram utilizados:

- 1) O estudo foi aplicado em voluntários cientes da importância da pesquisa clínica, recrutados, selecionados e orientados por um instituto de pesquisas clínicas, independente e com experiência em estudos clínicos: o ICF, Goiânia.

- 2) Recomendou-se que os voluntários mantivessem sua rotina normal em relação a esses parâmetros, com exceção do uso de produtos e práticas físicas que pudesse interferir com o resultado da pesquisa.
- 3) Houve acompanhamento telefônico diário nas 3 etapas de uso dos medicamentos e avaliações clínicas semanais ao longo dos 42 dias de estudo.
- 4) As orientações foram apresentadas aos voluntários em reuniões de recrutamento para a pesquisa, utilizando-se também material escrito.
- 5) A utilização do balanço hídrico real, em vez de volume controlado de líquido ingerido menos volume urinário, enseja a resposta global do organismo aos fatores da vida real que os estudos controlados não acessam, mas os medicamentos colocados no mercado, sim.

2.12 Medidas para Garantir Relevância e Fidedignidade dos Dados Obtidos

Para determinar se algumas das variáveis não controladas da vida real apresentaram diferença entre os indivíduos e em relação aos grupos, o que poderia impactar de alguma forma no resultado, algumas medidas foram tomadas:

- a) Testes estatísticos para avaliar se os grupos foram homogêneos em relação ao BH0 em todas as etapas, e se este parâmetro era seguro para avaliar a atividade diurética no experimento.
- b) O estudo cruzado e a randomização do delineamento de Williams foram utilizados para reduzir o impacto de variáveis não controladas e tornar os dados mais confiáveis.

2.13 Análise dos Dados

Os dados foram digitados e armazenados no software excel para windows para posterior análise em programa estatístico *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS, versão 17.0.

O teste Kolmogorov-Smirnov foi usado para testar se os dados apresentaram distribuição normal.

Para os dados com distribuição normal foi usado o teste t-Student pareados para testar a existencia ou não de diferença significativa na pré e pós intervenção. O teste t-Student para dados independentes foi usado para testar a existencia de diferença significativa entre os grupos A, B e C.

Foi aplicada a análise de variância afim de verificar a existencia ou não de diferença significativa das variáveis em relação aos grupos A, B e C.

O teste de Wilcoxon e o teste de correlação de Pearson foram usados para análise dos teores unitários de sódio e potássio antes e depois das intervenções.

Foi considerado o nível de 95% de confiança, ou seja, $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise do material estudado

A análise de uma amostra do extrato seco de *E. Arvense* utilizado neste experimento, realizada por CCD, revelou um perfil semelhante ao descrito pelo método de Wagner e Bladt (2001) [20]. Foram identificadas quatro bandas amarelas: Rf 0,11; Rf 0,35; Rf 0,41 e Rf 0,59, esta provavelmente referente à isoquercitrina; e uma banda azul (Rf 0,17), que confirmaram a autenticidade da amostra.

3.2 Amostra estudada

Não houve diferença significativa entre os indivíduos dos diversos grupos quanto à idade ($p=0,872$), peso ($p=0,768$), altura ($p=0,489$) e IMC ($p=0,980$), ou seja, os grupos foram homogêneos no início do estudo.

3.3 Balanço Hídrico (BH)

O BH do dia zero (BH0) foi comparado entre todos os voluntários em cada etapa do estudo e observou-se que não houve diferença significativa entre os voluntários individualmente e nem em relação aos grupos alocados pelo delineamento de Williams. Ao se compararem os BH0 entre os grupos A, B e C, revelou-se que não houve diferença significativa entre os grupos ($p>0,05$). Da mesma forma, o BH0 do grupo como um todo se apresentou também de forma semelhante nas três etapas da coleta de dados do estudo.

Observou-se que a ingestão de líquidos pelos voluntários foi semelhante nas três etapas do experimento, assim como também, o volume urinado, como um todo, não diferiu quando comparadas as três etapas ($p>0,05$).

Tais dados demonstram homogeneidade entre os voluntários e confirma o BH0 como parâmetro confiável de referência.

Os valores dos balanços hídricos do dia zero (BH0) apresentaram distribuição normal, verificada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, apesar de existir uma grande variabilidade entre os valores obtidos. Isto sugere que, mesmo em indivíduos com faixa etária, peso, idade e IMC homogêneos, os BHs podem variar muito, sendo esta uma característica da amostra estudada.

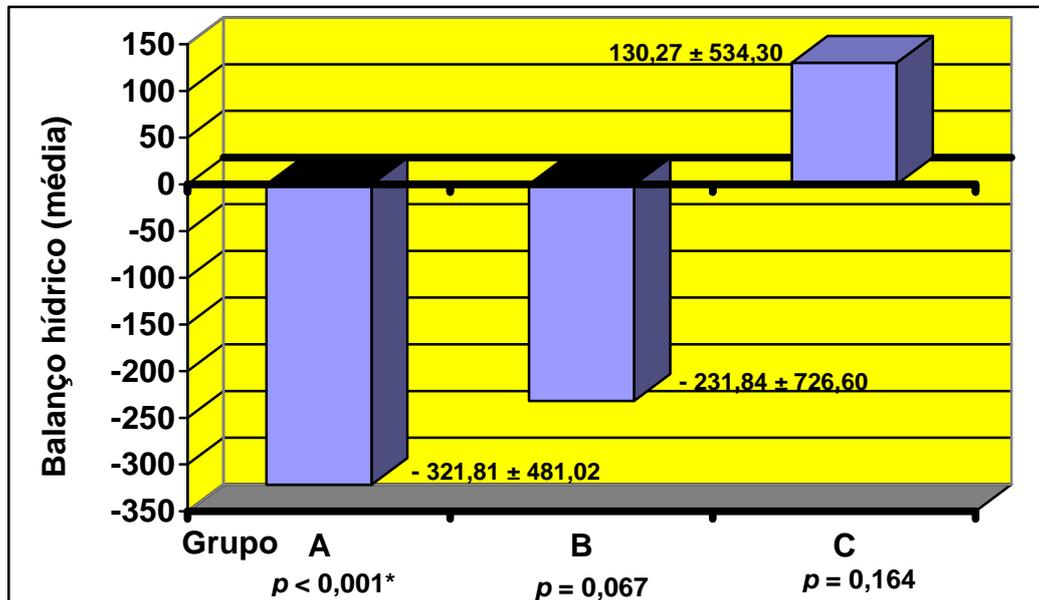
3.4 Efeito Diurético

Seguindo os parâmetros estabelecidos no item 2.9 deste trabalho, são os seguintes os critérios para avaliação do efeito diurético:

a) Avaliação do BH Final por Grupo: A diferença entre o revelou que, no caso do Grupo A (*E. arvense*), houve BH Final negativo de $-321,81 \pm 481,02$ mL; no Grupo B (hidroclorotiazida), encontrou-se um BH Final negativo de $-231,84 \pm 726,60$ mL. Por outro lado, no Grupo C (placebo), houve um BH Final positivo de $130,27 \pm 534,30$ mL. Ressalta-se que o BH Final negativo é um critério importante na determinação da existência de diurese, o que

indica efeito diurético para a *E. arvense* e a hidroclorotiazida, e ausência de tal efeito após intervenção com placebo [24]. (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Balanço hídrico final (BH Pós-intervenção – BH0) em cada Grupo.



Grupos: A = *Equisetum arvense*; B = hidroclorotiazida; C = placebo.
Valores expressos em mL (mililitros).
n = 36 em cada Grupo.

* p < 0,05

b) Comparação entre Grupos: Na comparação dos BHs Finais entre os Grupos, houve diferença significativa entre os Grupos A (*E. arvense*) e C (placebo) ($p < 0,001$) e entre os Grupos B (hidroclorotiazida) e C (placebo) ($p = 0,026$). Todavia não houve diferença entre os Grupos A e B ($p = 0,566$). Isto demonstrou que a *E. arvense* e a hidroclorotiazida foram semelhantes entre si quanto ao BH Final negativo, indicando diurese semelhante entre elas, e que ambas foram superiores ao placebo.

c) Avaliação intragrupo: A avaliação do BH Final intragrupo mostrou que no Grupo A (*E. arvense*) ocorreu um efeito diurético significativo ($p < 0,001$). No caso do Grupo B (hidroclorotiazida), apesar de ter ocorrido balanço negativo, este não se revelou estatisticamente significativo ($p = 0,067$), provavelmente em virtude do grande desvio padrão; e no caso do Grupo C o balanço hídrico foi positivo e não houve diferença significativa ($p = 0,164$) entre o BH0 e o BH Final (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação dos balanços hídricos intragrupo.

Grupo	Balanços Hídricos			P
	BH0	BH Pós-intervenção	BH Final	
A	844,43 ± 632,72	522,62 ± 463,03	- 321,81 ± 481,02	< 0,001*
B	773,86 ± 955,37	542,01 ± 935,37	- 231,84 ± 726,60	0,067
C	634,69 ± 511,46	763,21 ± 482,45	130,27 ± 534,30	0,164

Teste t de Student.* $p < 0,001$

Grupos: A = *Equisetum arvense*; B = hidroclorotiazida; C = placebo.

Valores expressos em mL

$n = 36$ em cada grupo.

d) Efeito sobre excreção urinária sódio, potássio: Não houve alteração significativa nas taxas de sódio e potássio eliminados na urina em função das intervenções, nas três etapas do estudo. Após a aplicação do Teste de Correlação de Pearson, não houve correlação entre o balanço hídrico e o sódio na primeira etapa ($p = 0,513$), na segunda ($p = 0,824$) ou na terceira ($p = 0,513$). Igualmente, não houve correlação entre o balanço hídrico e o potássio na primeira ($p = 0,388$), na segunda ($p = 0,425$) ou na terceira etapas ($p = 0,931$).

No caso da hidroclorotiazida, houve BH Final negativo semelhante à *E. arvense* na comparação entre os grupos, critério importante na determinação do efeito diurético [24]. Todavia, o grande desvio padrão pode ter prejudicado a demonstração de um efeito diurético significativo dentro do próprio grupo, ao avaliar-se o BH Final. Tal resultado estatístico deveu-se à grande heterogeneidade nas respostas dos voluntários após o uso da hidroclorotiazida. Esta característica não é uma surpresa. Estudos antigos já reportaram a variabilidade da resposta diurética dessa droga. Earley e Orloff (1962) e posteriormente Kim et al. (2004) discutiram o efeito antidiurético da hidroclorotiazida em pacientes portadores de *diabetes insipidus* [27,28]. Um estudo clínico realizado sugeriu que a farmacocinética da hidroclorotiazida variava em função da sensibilidade dos indivíduos à droga e que a sua absorção poderia ter sido afetada por disfunções digestivas [29]. Um estudo

que avaliou o controle da pressão arterial com hidroclorotiazida reportou variações tão grandes entre os voluntários, tanto na magnitude quando na direção das respostas, que os autores consideraram a medida da pressão arterial em consultório médico inadequada para predizer o controle da pressão arterial ambulatorial – muito embora os autores tenham atribuído a variabilidade a questões da técnica de medição [30].

Quanto à *E. arvense*, esta foi administrada na dose máxima recomendada para extratos secos: 900 mg [24]. Isto pode explicar o efeito diurético comparável à hidroclorotiazida, administrada na dose diária mediana de 25 mg [25]. Os resultados sobre o efeito diurético da *E. arvense* confirmam alguns dados pré-clínicos mais antigos. A Agência Médica Europeia reporta diversos pesquisadores, tais como Cow (1912), que teria demonstrado o efeito diurético da *E. arvense* em cães; Wachter (1938), em estudo com ratos, indicou que a cavalinha é um diurético eficaz e de rápido efeito, mas sem balanço hídrico negativo, da mesma forma, Kreitmair (1936 e 1953) e de Herre (1937) obtiveram resultados semelhantes. Volmer (1937, 1939, 1940, 1941), utilizando o chá de *E. arvense* em ratos e coelhos, encontrou efeitos diuréticos com balanço hídrico negativo [24]. Reuelta et al. (1978), em um estudo pré-clínico, verificaram efeito diurético leve da *E. arvense* [26].

Outro aspecto importante em relação à resposta diurética obtida com a *E. arvense* é que os dados confirmam a etnofarmacologia e o uso tradicional como um diurético, que está presente em praticamente todo o mundo, incluindo o Brasil e outros países da América do Sul [5,10,16,17,18,24,26], diversos países da Europa [4,6,7,8,9,11,24], do extremo oriente e da Ásia [4,13,14,15,24]. Esta confirmação é um grande estímulo ao estudo clínico de outros efeitos farmacológicos atribuídos à *E. arvense* e ao estudo clínico de outras plantas medicinais com largo uso tradicional.

3.5 Segurança de Uso

3.5.1 Exames Complementares

A análise dos exames complementares revelou que todos os valores se encontraram dentro dos padrões de normalidade, evidenciando que não houve manifestações agudas de toxicidade renal, hepática, hematológica ou eletrolítica. Embora tenha havido variações significativas em algumas das taxas analisadas pelo Teste t-Student, nenhum dos exames se apresentou fora dos padrões normais. Deste modo, a *E. arvense*, na etapa 1 produziu uma diminuição significativa nas taxas de creatinina ($p=0,003$) e ácido úrico ($p=0,010$); na etapa 2, diminuição na ALAT (TGP) ($p=0,022$), Gama GT ($p=0,007$) e fósforo ($p<0,001$), com aumento na ureia ($p=0,025$) e creatinina ($p=0,006$); na etapa 3, diminuição em Gama GT ($p=0,006$), cloreto ($p=0,042$), íon magnésio ($p=0,044$) e fósforo ($p=0,032$).

Os exames laboratoriais permaneceram dentro da faixa de normalidade em todas as etapas, tanto na pré quanto na pós-intervenção. Não houve sinais de qualquer toxicidade hepática, renal, hematológica ou eletrolítica.

Em consonância com o seu uso na medicina tradicional chinesa e com a pesquisa de Oh et al. (1994), que atestam a ação hepatoprotetora da *E. arvense* [31], notou-se uma redução consistente da Gama GT nos voluntários do Grupo A na segunda e terceira etapas ($p = 0,007$ e $0,006$, respectivamente). Na segunda etapa, este grupo apresentou também redução da enzima TGP.

3.5.2 Efeitos Adversos

De modo geral, todas as intervenções foram bem toleradas. Registraram-se sintomas esparsos distribuídos entre os 3 grupos de forma homogênea. Apenas um voluntário queixou-se, na primeira etapa da intervenção com *E. arvense*, de um episódio de cefaleia intensa. Na primeira

etapa do estudo, um voluntário apresentou intensa reação adversa, com diurese profusa e polidipsia após uma única dose de hidroclorotiazida; dois outros voluntários comunicaram falhas de seguimento do protocolo. Os três indivíduos foram desligados do estudo e imediatamente substituídos por outros do mesmo banco de voluntários do ICF, atendendo aos critérios de inclusão e exclusão. Todos os demais sintomas relatados foram classificados como de leve intensidade. A maioria melhorou sem medicação sintomática e apenas dois voluntários usaram analgésicos durante o experimento (paracetamol). O sintoma mais frequente foi cefaleia, presente em todas as intervenções em quase todas as etapas.

3.6 Pressão Arterial

A pressão sistólica apresentou diminuição significativa do pós em relação à pré-intervenção apenas na primeira etapa do grupo de sequência BCA ($p=0,037$). Nos demais grupos não se observou diferença significativa na comparação do pré em relação à pós-intervenção em nenhuma das três etapas.

4 CONCLUSÃO

A *E. arvense* apresentou efeito diurético com base nas medidas de balanço hídrico, mostrando-se comparável à hidroclorotiazida (25 mg) e superior ao placebo (amido).

A *E. arvense* não apresentou efeitos significativos sobre a excreção de eletrólitos e catabólitos urinários e mostrou-se segura para o uso, considerando-se a ausência de alterações nas provas de função hepática, renal e hematológicas, bem como a baixa incidência de leves reações adversas.

Futuras pesquisas são necessárias para melhor esclarecimento do mecanismo de ação diurética, bem como de outras possíveis ações farmacológicas deste fitomedicamento.

As limitações no controle do protocolo experimental foram minoradas por meio de recursos metodológicos e estatísticos (item 2.11), todavia elas podem ter influenciado em alguns dos resultados. Novos estudos com melhor controle e condições metodológicas mais adequadas são necessários para validar a *E. arvense* como um diurético eficaz e como um medicamento útil no tratamento de patologias que requerem um diurético leve e seguro.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo apoio financeiro ao Projeto.

Ao Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) pela colaboração durante toda a fase experimental do estudo.

À Farmácia Artesanal, pela gentileza do fornecimento dos medicamentos utilizados neste protocolo.

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) da Faculdade de Farmácia da UFG, pela análise das amostras de *Equisetum arvense*.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não houve conflito de interesses na realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

[1] Geavlete P, Multescu R, Geavlete B. *Serenoa repens* extract in the treatment of benign prostatic hyperplasia. Ther Adv Urol 2011; 3(4):193-198.

[2] World Health Organization - WHO. Traditional Medicine. 2008. Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>

- [3] BRASIL. Instituto Nacional de Propriedade Industrial. INPI. Laboratórios reforçam aposta no segmento fitoterápico. 2011. Available from: URL: http://www.inpi.gov.br/index.php?option=com_content&view=article&id=628:laboratorios-reforcaram-apostas-no-segmento-fitoterapico&catid=53:clipping&Itemid=148
- [4] Blumenthal M, Goldberg A, Brickmann J. Herbal medicine - Expanded Commission E Monographs. Boston: American Botanical Council, 2000. P.195-196.
- [5] Gupta PM (Ed.). CYTED – 270 Plantas Mediciniais Iberoamericanas. Santafé Convênio Andres Bello, 1995. P. 263-265.
- [6] Larousse V. Encyclopédie des Plantes Médicinales. Paris, 2001. P.156-157.
- [7] PDR for Herbal Medicines – The Information Standard for Complementary Medicine. Montevale: Medical Economics Company, 1998.830-831.
- [8] Blumenthal M, Editor. The Complet German Commission E Monographs – Therapeutic Guide to Herbal Medicines. Boston: The American Botanical Council. 1998. P .150-151.
- [9] British Herbal Pharmacopoeia. London: British Herbal Medicine Association, 1996. P. 76.
- [10] Franco LL. As Sensacionais 50 Plantas Mediciniais. V.2. Curitiba: Editora Lobo Franco. 2001. P. 81.
- [11] Mimica-Dukic N, Simin N, Cvejic J, Jovin E, et al. Phenolic compounds in field horsetail (*Equisetum arvense* L.) as natural antioxidants. Molecules 2008; 13(7): 1455-1464.
- [12] Ferraz MP, Pereira AC, Lopes MA, Fernandes MH. *Equisetum arvense*: Avaliação das possibilidades de aplicação na regeneração óssea. Rev Faculd Ciên Saúde 2008; 5:136-145.
- [13] Stajner D, Popović BM, Canadanović-Brunet J, Boza P. Free radical scavenging activity of three *Equisetum* species from Fruska gora mountain. Fitoterapia 2006; 77(7-8):601-604.
- [14] Safiyeh S, Fathallah FB, Vahid N, Hossine N, Habib SS. Antidiabetic effect of *Equisetum arvense* L. (Equisetaceae) in streptozotocin-induced diabetes in male rats. Pak J Biol Sci 2007; 10(10):1661-1666.
- [15] Soleimani S, Azarbaizani FF, Nejati V. The effect of *Equisetum arvense* L. (Equisetaceae) in histological changes of pancreatic beta-cells in streptozotocin-induced diabetic in rats. Pak J Biol Sci 2007; 10(23):4236-4240.

[16] Baracho NC, Vicente BB, Arruda GD, Sanches BC, Brito J. Study of acute hepatotoxicity of *Equisetum arvense* L. in rats. Acta Cir Bras 2009; 24: 449-453.

[17] Luengo M TL. Fitoterapia - Plantas medicinales con acción diurética. 2010 Available from: URL: <http://www.doymafarma.com>.

[18] Del Fresno ÁMV, Peinado II. Equiseto: Farmacología y farmacoterapia. Farm Profes 2006; 20: 74-77.

[19] Wright CI, Van-Buren L, Kroner CI, Koning MMG. Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. J Ethnopharmacol 2007; 114(1):1-31.

[20] Wagner H, Bladt S. Plant Drug Analysis - a Thin Layer Chromatography Atlas. 2a Ed. Berlin: Springer; 2001. P. 364.

[21] Chow SC, Liu JP. Design and Analysis of Bioavailability and Bioequivalence Studies. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, 2000. P. 584.

[22] Hooman N, Mojab F, Nickavar B, Pouryousefi-Kermani P. Diuretic effect of powdered *Cerasus avium* (cherry) tails on healthy volunteers. Pak J Pharm Sci 2009; 381-383.

[23] Nascimento DF, Santana APM, Leite IO, Viana FAC, Leite ALAS, Moraes RA et al. Estudo de toxicologia clínica de um fitoterápico contendo *Passiflora incarnata* L., *Crataegus oxyacantha* L., *Salix alba* L. em voluntários saudáveis. Rev Bras Farmacog 2009; 19(1B): 261-268.

[24] European Medical Agency - EMEA. Committee on Herbal Medicinal Products. List of References Supporting the Assessment Report on: *Equisetum arvense*. London: European Medicines Agency Evaluation of Medicines for Human Use. 2008. p.1-41.

[25] LAFEPE, 2011. Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco. Medicamentos. 2011. Available from: URL: http://www.lafepe.pe.gov.br/medicamento_detalhes.php?id_med=42.

[26] Rebuella M, San Roman L. Estudio Del Efecto Diurético de: *Equisetum arvense* L., *Bidens aurea* Aiton Sherff., *Microme fruticosa* L., *Spergularia rubra* L., *Cynod dactylon* L. Anal Inst Bot 1978; 34:703-714.

[27] Earley LE, Orloff J. The mechanism of antidiuresis associated with the administration of hydrochlorothiazide to patients with vasopressin-resistant Diabetes Insipidus. J Clin Invest 1961; 41 (11): 1988-1997

[28] Kim GH , Lee JW, Oh YK. Antidiuretic Effect of Hydrochlorothiazide in Lithium-Induced Nephrogenic Diabetes Insipidus Is Associated with Upregulation of Aquaporin-2, Na-Cl Co-transporter, and Epithelial Sodium Channel. J Amer Soc Nephrol 2004; 15: 2836–2843.

- [29] Beermann B, Groschinsky-Grind M. Pharmacokinetics of Hydrochlorothiazide in Man. *Europ. J Clin Pharmacol* 1977; 12:297-303.
- [30] Finkielman JD, Schwartz GL, Chapman AB et al. Lack of agreement between office and ambulatory blood pressure responses to hydrochlorothiazide. *Am J Hypertens* 2005; 18: 398–402.
- [31] Oh H, Kim DH, Cho JH, Kim YC. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *J Ethnopharmacol* 2004; 95(2-3): 421-424.

5 CONCLUSÕES GERAIS

A revisão da literatura confirmou que os estudos clínicos sobre o efeito diurético da *E. arvense* são escassos e os dados de estudos pré-clínicos foram contraditórios. Por outro lado, existe vasta literatura sobre esta espécie quanto a outros aspectos, tais como estudos pré-clínicos sobre atividades antioxidante, ansiolítica, hepatoprotetora, remineralizante, entre outras. Os dados clínicos sobre a segurança de uso dessa planta ainda não são satisfatórios, embora haja estudos fitoquímicos, farmacológicos pré-clínicos que sustentem, ao lado do seu uso tradicional, a pesquisa em seres humanos.

O ensaio clínico nos permitiu concluir que o extrato da *E. arvense* apresentou efeito diurético, com base nas medidas de balanço hídrico, mostrando-se superior ao placebo e equivalente à hidroclorotiazida (25 mg). Não houve alterações significativas sobre a excreção de eletrólitos e catabólitos urinários e a droga se mostrou segura para o uso em curto prazo.

Outros estudos, com melhor controle, tornam-se necessários para melhor esclarecimento do mecanismo de ação diurética, bem como de outras possíveis ações farmacológicas deste fitomedicamento. Estudos clínicos de toxicidade ainda são necessários. São necessários também estudos envolvendo mulheres, em melhores condições metodológicas para a sua participação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 Limitações do Estudo

O *n* e o tempo de estudo, susceptíveis a críticas, encontram-se acima da média para pesquisas semelhantes, como se demonstrou no artigo. O estudo cruzado e a aplicação da randomização proposta pelo Delineamento Williams reduziram o impacto de variáveis não controladas. Testes estatísticos confirmaram a homogeneidade do grupo quanto aos fatores fisiológicos (balanço hídrico basal), comportamentais (ingestão de líquidos) e fatores biométricos.

As limitações quanto ao controle rígido da metodologia foram minimizadas por meio da parceria com o Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF), referência no Estado de Goiás em pesquisas clínicas. Recrutaram-se voluntários orientados quanto à responsabilidade que envolve a participação em pesquisas e selecionados por testes psicológicos e exames bioquímicos. Toda a fase experimental foi realizada na Unidade Clínica do ICF. O estudo cruzado e a randomização de Williams foram utilizados para tornar os dados mais confiáveis. Foram realizados testes estatísticos para assegurar a homogeneidade da amostra. Os voluntários assinaram uma Declaração de Ciência do Controle do Uso de Medicamentos, informando que falhas no protocolo culminariam no desligamento da pesquisa. Nos dias de uso das cápsulas, nas três etapas, a equipe do ICF e o pesquisador fizeram ligações para todos os voluntários, reforçando o correto seguimento do protocolo.

A ausência de voluntárias do sexo feminino participando do estudo atendeu à finalidade de se evitarem interferências de ciclos hormonais ou do uso de anticoncepcionais, bem como visando melhor adaptação ao protocolo da metodologia, que foi realizado sem internação. Estudos envolvendo mulheres tornam-se necessários, em melhores condições metodológicas.

6.2 Contribuição Científica

Este estudo contribuiu para reduzir o grau de incerteza que cerca a

questão da atividade diurética e da segurança de uso do *E. arvense*. Espera-se que este fitofármaco possa ser levado a pesquisas clínicas com pacientes portadores de patologias que necessitem de uma ação diurética leve e segura.

Com este estudo espera-se ainda contribuir para a abertura em Goiás de uma plataforma de pesquisas na área de ensaios clínicos com plantas medicinais e fitoterápicos, o que com certeza representará um grande avanço tanto em termos científicos quanto mercadológicos para o Brasil e para o estado de Goiás, que é pioneiro no Brasil no uso de Fitoterapia em Saúde Pública.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Meu nome é **Danilo Maciel Carneiro**, sou o pesquisador responsável e minha área de atuação é **Avaliação Clínica de Medicamentos**. Após ler com atenção este documento e ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte deste estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores responsáveis, **Médico Danilo Maciel Carneiro**, nos telefones (62) 3281-9813 e 7813-4346, **Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha**, no telefone (62) 3209-6329 e 9994 2586. Em caso de dúvidas ou esclarecimentos sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás (UFG), nos telefones (62) 3521 1215.

Informações importantes sobre a pesquisa

Título: *Equisetum arvense* (Cavalinha): avaliação clínica da atividade diurética, da segurança e dos efeitos sobre a excreção de eletrólitos e catabólitos urinários.

Informações sobre quem está aplicando o termo de consentimento: esta pesquisa será desenvolvida por mim, **Danilo Maciel Carneiro**, médico graduado pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás Objetivo, CRM-GO 4644, área de atuação em **Avaliação Clínica de Medicamentos** e aluno do Mestrado em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da UFG. Estarei sob a coordenação do Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha, professores e pesquisadores da Faculdade de Farmácia da UFG.

Objetivos da pesquisa: Avaliar o efeito diurético e a segurança do uso da cavalinha - *Equisetum arvense*.

Detalhamento do procedimento: Nós, pesquisadores, entraremos em contato com você para marcar as datas das consultas, da dispensação do medicamento e de coletas de sangue e urina. A coleta de urina do dia todo (24 h) será feita por você mesmo, de acordo com orientações feitas pelos pesquisadores.

Especificação dos riscos, prejuízos, desconfortos, lesões que podem ser provocados pela pesquisa: De acordo com a literatura dos medicamentos envolvidos na pesquisa, as seguintes são as reações adversas possíveis:

c) Hidroclorotiazida: Ela é geralmente muito bem tolerada. Nossa metodologia propõe um uso de curtíssima duração, o que reduz drasticamente as possibilidades de efeitos colaterais. Todavia, eventualmente, podem ocorrer as seguintes reações adversas, com: gastrintestinais: anorexia, desconforto gástrico, náuseas, vômitos, constipação, icterícia colestática, pancreatite. Sistema nervoso central: vertigens, parestesia, cefaleia. Hematológicas: leucopenia, agranulocitose, trombocitopenia, anemia aplástica, anemia hemofílica. Cardiovasculares: Hipotensão ortostática (pode ser potencializada pelo álcool, barbitúricos ou narcóticos). Hipersensibilidade: Púrpura, fotossensibilidade, urticária, erupção cutânea, reações anafiláticas. Outras: Hiperglicemia, glicosúria, hiperuricemia, fraqueza, espasmo muscular.

d) *Equisetum arvense*: É muito bem tolerada. Não são conhecidos os efeitos colaterais com a utilização das dosagens recomendadas de produtos contendo *Equisetum arvense*. Os efeitos colaterais dos produtos contendo Cavalinha têm sido associados ao seu uso contínuo. Com a administração em longo prazo, ocasionalmente, podem ocorrer: cefaléias, tenesmo, anorexia, disfagia. Foram relatados casos de reações alérgicas, febre, batimentos cardíacos irregulares, fraqueza muscular, falta de coordenação dos movimentos, dermatite seborreica e perda de peso.

O curtíssimo tempo de uso durante a pesquisa é um grande fator de segurança em relação a qualquer efeito adverso relativo aos medicamentos. Todavia, você tem total garantia da liberdade de não aceitar este convite, e também tem liberdade de abandonar o projeto a qualquer momento durante a pesquisa, sem qualquer prejuízo da continuidade do tratamento atual.

No caso de qualquer efeito adverso, caso você deseje, lhe será prestado atendimento médico e direito à realização de exames e tratamento em relação a sintomas provenientes do uso dos medicamentos da pesquisa.

Informação sobre o direito de pleitear indenização em casos de danos decorrentes de sua participação na pesquisa: Você terá o direito de pleitear indenização, caso o dano seja comprovadamente decorrente de atividades relacionadas diretamente ao objeto da pesquisa.

Informação sobre o direito de ressarcimento de despesas pela sua participação: Não haverá ressarcimento para gastos feitos durante a sua participação neste projeto. Todavia, você terá cobertas despesas eventuais que tiver durante a pesquisa, como vale transporte e vale alimentação, caso as coletas de sangue sejam marcadas para datas que não correspondam ao seu retorno periódico à consulta médica.

Esclarecimento sobre pagamento ou gratificação financeira pela sua participação: Você não receberá nenhum tipo de pagamento ou gratificação por participar desta pesquisa. Participarão da pesquisa aqueles que se apresentarem de forma espontânea e voluntária.

Período de participação: A coleta de sangue será no período de março/2011 a abril/2011, com datas previamente agendadas.

Garantia de sigilo: O sigilo da sua participação está garantido, porque somente os pesquisadores terão acesso ao termo de consentimento e aos dados das amostras coletadas.

Garantia da liberdade na participação: Você tem garantida a liberdade de não aceitar este convite, e também tem liberdade de abandonar o projeto a qualquer momento durante a pesquisa, sem qualquer prejuízo da continuidade do tratamento atual.

Dados coletados: os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa e não serão armazenados para estudos futuros.

Médico. Danilo Maciel Carneiro Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha

Consentimento da participação da pessoa como sujeito da pesquisa

Eu, _____, RG _____,
CPF _____, número de prontuário _____
abaixo assinado, concordo em participar do estudo ***Equisetum arvense***
(Cavalinha): avaliação clínica da atividade diurética, da segurança e
dos efeitos sobre a excreção de eletrólitos e catabólitos urinários, sob a
responsabilidade do Médico. Danilo Maciel Carneiro e do professor Dr. Luiz
Carlos da Cunha, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado (a) e
esclarecido (a) pelo pesquisador Danilo Maciel Carneiro sobre a pesquisa, e
dos procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e
benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso
retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a
qualquer penalidade ou interrupção de meu tratamento.

Goiânia, ____/_____/201

Nome e assinatura do sujeito ou responsável

Nome e assinatura do Pesquisador Responsável

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimento sobre a
pesquisa e aceite do sujeito em participar.

Nome e assinatura da 1ª testemunha

Nome e assinatura da 2ª testemunha

Observações complementares:

APÊNDICE B - DECLARAÇÃO DE CONSCIÊNCIA SOBRE A REALIZAÇÃO DE TESTES DE CONTROLE DE USO DE FÁRMACOS, DROGAS E ÁLCOOL.

	<p><u>PESQUISA EQUISETUM ARVENSE</u> <u>DECLARAÇÃO DE CONSCIÊNCIA</u> PRPPG - UFG/2011</p>
---	--

DECLARAÇÃO DE CONSCIÊNCIA SOBRE A REALIZAÇÃO DE TESTES DE CONTROLE DE USO DE FÁRMACOS, DROGAS E ÁLCOOL.

Declaro que estou ciente de que TESTES LABORATORIAIS poderão ser realizados no sangue coletado durante a pesquisa para dosar a real presença dos medicamentos da pesquisa.

Também poderão ser realizados testes para detectar a presença de outros medicamentos, drogas e álcool no sangue.

À critério dos pesquisadores poderá ser realizado teste do bafômetro a qualquer momento da pesquisa, a fim de detectar o uso ou não de bebidas alcoólicas.

Todos os exames aqui mencionados serão realizados exclusivamente com o objetivo de controlar o protocolo da pesquisa e não poderão ser utilizados com outros fins.

Todos os resultados são sigilosos entre os pesquisadores e o voluntário, não podendo ser divulgados para outro fim.

No caso de se comprovar que o voluntário NÃO tomou corretamente os medicamentos da pesquisa ou que ele usou indevidamente outros medicamentos que podem alterar os resultados da pesquisa ou bebidas alcoólicas, ele poderá ser excluído da pesquisa por justa causa, sem direito a ressarcimentos.

Goiânia, ____ de _____ de 2011.

APÊNDICE C - TABELA DE RANDOMIZAÇÃO DO DELINEAMENTO DE WILLIAMS

Sequência	Sujeito	Etapas de Intervenção		
		1	2	3
ABC	4	A	B	C
	9	A	B	C
	16	A	B	C
	26	A	B	C
	28	A	B	C
	35	A	B	C
CAB	7	C	A	B
	11	C	A	B
	13	C	A	B
	15	C	A	B
	21	C	A	B
	25	C	A	B
BCA	8	B	C	A
	19	B	C	A
	22	B	C	A
	27	B	C	A
	29	B	C	A
	31	B	C	A
CBA	1	C	B	A
	2	C	B	A
	10	C	B	A
	24	C	B	A
	32	C	B	A
	33	C	B	A
BAC	12	B	A	C
	14	B	A	C
	17	B	A	C
	18	B	A	C
	30	B	A	C
	34	B	A	C
ACB	3	A	C	B
	5	A	C	B
	6	A	C	B
	20	A	C	B
	23	A	C	B
	36	A	C	B

APÊNDICE D - FORMULÁRIO PARA ENTREGA DOS TRATAMENTOS

	ETAPA ___X___		Etapas de Intervenção
Sujeito Número	Nome	CPF	ETAPA ___X___
			Data
			21/07/2011
4			A
9			A
16			A
26			A
28			A
35			A
7			C
11			C
13			C
15			C
21			C
25			C
8			B
19			B
22			B
27			B
29			B
31			B
1			C
2			C
10			C
24			C
32			C
33			C
12			B
14			B
17			B
18			B
30			B
34			B
3			A
5			A
6			A
20			A
23			A
36			A

APÊNDICE E - ORIENTAÇÕES PARA OS VOLUNTÁRIOS – ENTREGUE E EXPLICADO ANTES DE CADA ETAPA

	<p><u>Orientações - Pré-Experimental</u> PRPPG - UFG/2011 – Equisetum arvense Fone: (62) 3240-1999</p>
---	---

IMPORTANTE!!! Seu número de TELEFONE sempre deve estar ATUALIZADO para facilitar o contato do ICF com o VOLUNTÁRIO.

Projeto: Equisetum arvense (Cavalinha): avaliação clínica da atividade diurética, da segurança e dos efeitos sobre a excreção de eletrólitos e catabólitos urinários.

Responsáveis:

Dr. Danilo Maciel Carneiro (médico): 3281-9813.

Prof. Dr. Paulo César Brandão da Veiga Jardim (médico): 3209 6151.

Prof. Dr. Luiz Carlos da Cunha (farmacêutico/orientador): 3209 6329.

Programa de Pos-Graduação em Ciências da Saúde da UFG.

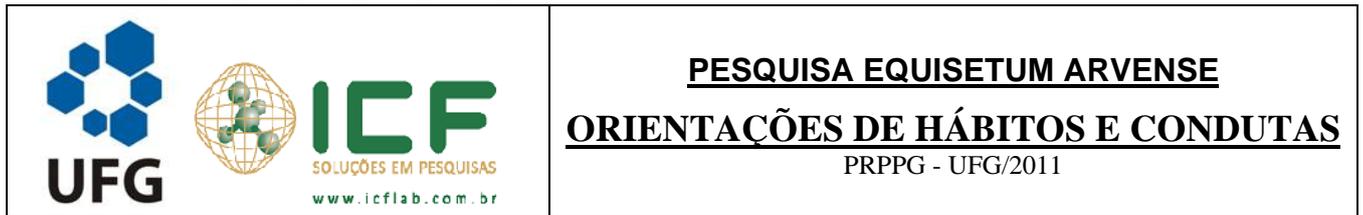
Local da pesquisa: Unidade de Pesquisa Clínica do ICF.

CRONOGRAMA:

Período:

24/08/2011	4ªf	<ul style="list-style-type: none"> - Coletar URINA E SANGUE no laboratório do ICF - Avaliação Médica - Pegar as cápsulas. Assinar declaração. Começar a tomar na 6ª feira: - Pegar mochila com material de apoio: Assinar declaração
26/08/2011	6ª f	<ul style="list-style-type: none"> - Seguir orientações de dieta, a ingestão de líquidos e atividades físicas. - Fazer contagem de urina 24 horas: medir e anotar - Anotar ingestão de água e líquidos: medir e anotar - Não usar chás, café, bebidas alcoólicas ou medicamentos. - Em caso de sintomas ou doença, entrar em contato com os pesquisadores. - Manter a rotina de alimentação e exercícios físicos.
27/8/2011 a 30/8/2011	Sábado a 3ª feira	<p>SEGUIR CORRETAMENTE O PROTOCOLO</p> <ul style="list-style-type: none"> - Tomar 1 cápsula de Frasco 1 uma vez de manhã - Tomar 1 cápsula do Frasco 2 duas vezes: tarde e noite - Fazer anotação de urina 24 horas: medir e anotar - Anotar ingestão de água e líquidos: medir e anotar - CONTINUAR SEGUINDO A DIETA
31/8/2011	4ªf	<ul style="list-style-type: none"> - VOLTAR AO ICF - Coletar urina e sangue em jejum no laboratório do ICF - Avaliação Médica - Seguir orientações de dieta, a ingestão de líquidos e atividades físicas.

APÊNDICE F - NORMAS PARA DE HÁBITOS DE VIDA DURANTE O PERÍODO DO EXPERIMENTO



Desde três dias antes e a perdurar durante todas as 3 etapas do experimento, VOCÊ DEVERÁ:

COM RESPEITO À ALIMENTAÇÃO:

- 1-NÃO FAÇA mudanças bruscas no seu ritmo alimentar, tais como dietas específicas ou especiais para qualquer finalidade, como emagrecer, engordar, desintoxicar, experimentar e etc.
- 2-NÃO CONSUMA excesso de alimentos ricos em sal, como churrascos, feijoadas e etc.
- 3-MANTENHA a sua rotina alimentar normal e habitual, fazendo de modo regular a manutenção dos seus hábitos alimentares.
- 4-NÃO USE produtos que interferem nos resultados da pesquisa, tais como: Café, refrigerantes tipo cola (Coca, Pepsi, etc.), chás diuréticos, chá verde, chá preto, bebidas alcoólicas.
- 5-É muito importante NÃO USAR bebidas alcoólicas, pois elas interferem nos resultados.
- 6-É muito importante que neste período NÃO PARTICIPAR de festas com excessos de comidas salgadas ou de doces, porque estes podem interferir nos resultados.
- 7-Se você está habituado a tomar um cafezinho ao dia, NÃO EXCEDA a mais do que um ao dia. Os que usam em excesso devem começar a reduzir para um ao dia já a partir de agora.
- 8-Voluntários que não seguirem estas regras devem comunicar aos pesquisadores, para avaliação a necessidade de serem excluídos da pesquisa.

COM RESPEITO ÀS ATIVIDADES FÍSICAS:

- 1-NÃO FAÇA mudanças bruscas no seu ritmo de atividades físicas durante os 45 dias de experimento.
- 2-Se não estiver fazendo atividades físicas quando começar a pesquisa, NÃO comece um treinamento em academias ou esportes.
- 3-Se estiver fazendo alguma atividade, MANTENHA o mesmo ritmo neste período.
- 4-NÃO FAÇA mudanças no estilo de atividades físicas, tais como aumentar as cargas e tempo de exercícios neste período.
- 5-NÃO FAÇA esforços físicos excessivos neste período.

APÊNDICE G - FICHA DE AVALIAÇÃO CLÍNICA – 1ª AVALIAÇÃO

 <p>UFG ICF SOLUÇÕES EM PESQUISAS www.icflab.com.br</p>	<p><u>PESQUISA EQUISETUM ARVENSE</u></p> <p>Ficha de Avaliação Clínica</p> <p>PRPPG - UFG/2011 – Equisetum arvense</p>
--	---

PRIMEIRA AVALIAÇÃO / PRÉ-EXPERIMENTAL

DATA: 21 DE JULHO DE 2011

Nome: _____

Número: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Peso (Kg): _____ IMC (Kg/m²): _____

Antecedentes Pessoais:

1. Via do parto: () Normal/A termo () Normal/Prematuro () Cesáreo/A termo () Cesárea? Prematuro () Não sabe

2. Posição entre irmãos: _____ de _____ irmãos. () Ignorado

3. Desenvolvimento psicomotor: () Normal () Alterado () Ignorado

4. Relacionamento familiar, social e afetivo: () Bom () Regular () Ruim

5. Estado Civil: () Solteiro () Casado () Outros

6. Filhos: () Não () Sim Quantos? _____

7. Atividades: () Estuda () Trabalha () Nenhuma

Antecedentes Fisiopatológicos:

() Doenças progressas () Acidentes, traumatismos, ferimentos, desmaios () Cirurgias () Alterações do aparelho digestivo () Nefropatias () Hepatite () Pneumopatias () Outros () NDN

Antecedentes Familiares:

() Diabetes () H.A. () Câncer () Cardiopatias () Doenças imunológicas () Doenças infecto-contagiosas () Dislipidemias () Alterações psiquiátricas () Pneumopatias () Nefropatias () Outras () Ignorado () NDN

Auto-Declaração de Raça: () Branco () Negro () Pardo () Amarelo () Indígena

Alimentação: () Regular / Em casa () Regular/Restaurantes () Irregular () Variada () Intolerâncias

- À base de: () Proteínas () Carboidratos () Fibras () Gorduras

- Ingesta de sal: () pouco () muito () acrescento sal no prato () Não acrescento

- Líquidos: () Menos de 1 litro ao dia () Mais de 1 litro () Mais de 2 litros

Hábitos nocivos:

a.Tabagista: () Não () Ex-fumante () Sim () Sim, ocasionalmente

Número de cigarros por dia: Há quanto tempo:

b.Etilista: () Não () Sim **Frequência:**

c.Drogas: () Não () Sim

d.Outros: () Não () Sim

Medicamentos de uso recente: () Não () Sim

Consumo de café: () Até cinco xícaras () Mais de 05 xícaras () Nenhuma

Atividades físicas:

() Regulares: Qual? Frequência:

() Ocasionais: Qual? () Sedentário

Exames complementares: () Não () Sim

Motivo: Quanto tempo:

Resultados:

Avaliação física preliminar:

1-Aparelho cardiorrespiratório:

a.() Normal() Alterações:Quais?

2-Pressão arterial: _____ x _____ mmHg

3-Frequência cardíaca: _____ bpm

4-Teste de hemoglobina: _____ g / dl _____ % hematócrito

5-Conduas:

Conclusão:

Avaliado por:

APÊNDICE H - FICHA DE AVALIAÇÃO MÉDICA – SEQUÊNCIA

	<p><u>PESQUISA EQUISETUM ARVENSE</u></p> <p>Ficha de Avaliação Clínica</p> <p>PRPPG - UFG/2011 – Equisetum arvense</p>
---	---

_____ AVALIAÇÃO MÉDICA - SEQUÊNCIA

Nome: _____ Número: _____

Idade: _____ Sexo: _____ Peso (Kg): _____ IMC (Kg/m²):

DATA: _____ / _____ / _____

ETAPA DA PESQUISA: () Primeira () Segunda () Terceira

Queixas: () Sim () Não

Interrogatório Sintomatológico:

Sintomas gerais: () Cefaléias () Zumbido () Tonturas () Febre () NDN

Sintomas oculares: () Sim () Não

Sintomas auditivos: () Sim () Não

Alergias: () Medicamentos () Nega alergias medicamentosas () Cutâneas () Rinite ()
Sinusite () Faringoamigdalite () outras

Sintomas cardiorrespiratórios: () Tosse () Pigarro () Epistaxes () Hemoptise ()
Precordialgias () Dor torácica () Arritmias () Bradicardias () Taquicardias () Extra-sístoles
() Outros () NDN

Pressão arterial: x mmHg

Frequência cardíaca: bpm

Ritmo Cardíaco

Aparelho digestivo: () Aftas () outras irritações da mucosa oral e Peri-oral () Refluxo ()
Deglutição () Alterações de parede () Dispepsia () Plenitude pós-prandial () Náuseas ()
Vômitos () Pirose () Flatulência () Dor abdominal () NDN

Alteração no ritmo intestinal: () Normal () Lento () Rápido () Ressecamento

Genitourinário: Alterações de micção: () Polaciúria () Disúria () Poliúria () Hematúria ()
Oligúria () Outros () NDN

Exame clínico neurológico básico:

Pupilas

Reflexo patelar

Teste de equilíbrio

Exame de inspeção cutânea geral

Controles de Exames Laboratoriais: Sangue / Urina / Outros

Volume de urina: Período de ____ / ____ a ____ / ____:

Ingestão de Líquidos: Período de ____ / ____ a ____ / ____:

Balanço Hídrico: Período de ____ / ____ a ____ / ____:

BH (0)

BH (1) BH (2) BH (3) BH (4)

BH (5) BH (total)

APÊNDICE I - PLANILHA DE LIGAÇÕES EM CADA ETAPA- Amostra

Voluntário	SÁBADO	DOMINGO	SEGUNDA	TERÇA
1	OK	OK	OK	OK
2	OK	OK	OK	OK
3	OK	OK	OK	OK
4	Recado	OK	OK	OK
5	Recado	OK	OK	OK
6	OK	OK	OK	OK
7	OK	OK	OK	OK
8	OK	OK	OK	OK
9	OK	OK	OK	OK
10	OK	OK	OK	OK
11	OK	OK	OK	OK
12	Recado	OK	OK	OK
13	OK	OK	OK	OK
14	OK	OK	OK	OK
15	OK	OK	OK	OK
16	OK	OK	OK	OK
17	OK	OK	OK	OK
18	OK	OK	OK	OK
19	OK	OK	OK	OK
20	OK	OK	OK	OK
21	OK	OK	OK	OK
22	OK	OK	OK	OK
23	OK	Recado	OK	OK
24	OK	Recado	OK	OK
25	OK	OK	OK	OK
26	OK	OK	OK	OK
27	OK	OK	OK	OK
28	OK	OK	OK	OK
29	OK	Recado	OK	OK
30	OK	OK	OK	OK
31	OK	OK	OK	OK
32	OK	OK	OK	OK
33	OK	OK	OK	OK
34	OK	OK	OK	OK
35	OK	OK	OK	OK
36	OK	OK	OK	OK

ANEXO B - LAUDO TÉCNICO DO FORNECEDOR DO SAL
HIDROCLOROTIAZIDA.



Certificado de Análise
Nr. Ctrf.: 032235.00-031632.01G0018/3125

HIDROCLOROTIAZIDA

C.A.S.: 58-93-5

D.C.B.: 04652

Seq.19/42 Página: 1/2

734

Data de Fabricação: 1/8/2010

Lote de Fabricação: 100805

Produto encontra-se nos
seguintes volumes

Data de Validade: 28/8/2014

País de Origem: CHINA

5

Lote Galena (CIQ): 1102040802

Nota Fiscal: 0105734

Ordem Fracionamento (OF): 326901

Dados do Requisitante

Requisitante: GALENA QUIMICA E FARMACEUTICA LTDA.

CNPJ: 57.442.774/0001-90

Fone: 0800 7714 270

Endereço: RUA PEDRO STANCATO, 860 - CAMPO AMARAIS

Cidade: CAMPINAS/SP

CEP: 13.082-050

Fórmula Molecular: C7H8ClN3O4S2

Peso Molecular: 297.74.

Classe Terapêutica: Diurético

ARMAZENAMENTO: Armaz.Temp. Ambiente, em recipiente fechado protegido da luz e umidade.

Análises/Componentes	Especificações	Incerteza de Medição (U)	Resultados das análises
IDENTIFICAÇÃO			
Infravermelho (0)	Positivo		Positivo
SOLUBILIDADE			
Água (0)	Pouco solúvel		Pouco solúvel
Etanol (0)	Levemente solúvel		Levemente solúvel
Acetona (0)	Solúvel		Solúvel
PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS			
Descrição (0)	Pó cristalino branco ou quase branco		Pó cristalino branco
Doseamento * (0)	98,0% a 102,0% (em relação à base seca)	1,4%	98,94%
Perda por dessecação (1g, 1hora, 105°C) (0)	Não mais que 0,5%	0	0,1%
Cinzas sulfatadas (0)	Não mais que 0,1%	0,1%	0,0%
Cloreto (0)	Não mais que 100ppm		<100ppm
Substâncias relacionadas * (0)	Conforme os requerimentos		Conforme
Acidez ou alcalinidade (0)	Não mais que 0,4mL		0,3mL

OBSERVAÇÕES

- Os resultados presentes neste Certificado de Análise, tem seus valores restritos a este lote.

* - Análises em acordo com o certificado de análise do fabricante.

- As demais análises foram realizadas no Laboratório de Controle da Qualidade Galena.
Referências: (0) British Pharmacopoeia 2010.

- A incerteza expandida de medição relatada é declarada como a incerteza padrão da medição multiplicada pelo fator de abrangência k.
Para o ensaio Água por Karl Fisher K= 2,52; pH K=2,37; Ponto de Fusão K=2,65; Perda por Dessecação K=2,10 para os demais testes do escopo K=2 que para uma distribuição normal corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 95%.
A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.