

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
NATURAIS E BIOTECNOLOGIA

EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Phyllanthus niruri* Linn
SOBRE PARÂMETROS NEUROCOMPORTAMENTAIS NA
PROLE DE RATAS TRATADAS DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO

MACIEL DA COSTA ALVES

CUITÉ - PB

2020

MACIEL DA COSTA ALVES

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Phyllanthus niruri* Linn
SOBRE PARÂMETROS NEUROCOMPORTAMENTAIS NA
PROLE DE RATAS TRATADAS DURANTE A GESTAÇÃO E
LACTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia pela Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Naturais e Biotecnologia.

Orientador: Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas

**Co-orientadora: Dr^a. Claudia Patrícia Fernandes dos Santos
Dr^a. Juliana Késsia Barbosa Soares.**

CUITÉ - PB

2020

A474e

Alves, Maciel da Costa.

Efeitos do extrato aquoso de *Phyllanthus niruri* Linn sobre parâmetros neurocomportamentais na prole de ratas tratadas durante a gestação e lactação / Maciel da Costa Alves. – Cuité, 2020.

94 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais e Biotecnologia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2020.

"Orientação: Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas, Profa. Dra. Claudia Patrícia Fernandes dos Santos, Profa. Dra Juliana Késsia Barbosa Soares".

Referências.

1. Quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* Linn). 2. Toxicidade Materna. 3. Desempenho Reprodutivo. 4. Maturação Reflexa. 5. Memória. I. Freitas, Juliano Carlo Rufino de. II. Santos, Claudia Patrícia Fernandes dos. III. Soares, Juliana Késsia Barbosa. IV. Título.

CDU 582.3/99(043)

MACIEL DA COSTA ALVES

**EFEITOS DO EXTRATO AQUOSO DE *Phyllanthus niruri* Linn SOBRE
PARÂMETROS NEUROCOMPORTAMENTAIS NA PROLE DE RATAS
TRATADAS DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO**

Dissertação aprovada em 19 / 02 / 2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas
UABQ/CES/UFCCG
- Presidente -

Prof^a. Dr^a. Juliana Késsia Barbosa Soares
UAS/CES/UFCCG
- Membro interno -

Prof^a Dr^a Igara Oliveira Lima
UAS/CES/UFCCG
- Membro interno -

Prof^a. Dr^a. Marília Ferreira Frazão Tavares de Melo
UAS/CES/UFCCG
- Membro externo -

CUITÉ - PB

2020

Aos meus pais Júlia Souto e Manoel Alves, pelo amor incondicional e por todo apoio e incentivo. Pois sem eles este trabalho e muitos dos meus sonhos não seriam realizados.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao bom Deus, que colocou pessoas maravilhosas ao meu lado durante o desenvolvimento desta pesquisa, me proporcionou energia, determinação e saúde para concluir todo esse trabalho e por me lembrar que sempre sou mais forte do que penso.

A minha mãe Júlia Souto da Costa Alves e ao meu pai Manoel Alves de Lima, por serem minha base, minha fortaleza e, principalmente, por todo incentivo e esforço feito para que os estudos estivessem em primeiro lugar em minha vida, contribuindo para a realização dos meus sonhos. Aos meus irmãos Marcelo Costa e Emanuel Costa, pela amizade, apoio, incentivo e estímulo para enfrentar novos desafios.

A minha namorada Ana Silva, por estar ao meu lado em todos os momentos, sempre com muito amor e carinho e por ser uma ótima companhia, principalmente nos meus piores dias.

Ao meu orientador Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas, pelo empenho, dedicação, ensinamentos, compromisso e responsabilidade. À Prof.^a Dr.^a Cláudia Patrícia F. dos Santos pelo aceite em ser coorientadora deste trabalho e toda preocupação e apoio.

À Prof.^a Dr.^a Juliana Késsia B. Soares, pela disponibilidade, oportunidades, orientações concedidas, pelos ensinamentos e, principalmente, pela confiança depositada em minha pessoa. Agradeço por acreditar no meu potencial.

Às Professoras Igara Oliveira Lima e Marília Ferreira Frazão Tavares pelo aceite em participar da banca e por todas as considerações para o aprimoramento desse trabalho.

Aos Mestres e amigos Diego Elias Pereira, Rita de Cássia Araújo Bidô e Andreza Moraes, pessoas especiais, a quem sou muito grato pelo companheirismo, conselhos, ensinamentos, preocupação. A Camila Maria, Suedna Costa, Gabriela Alves, Mikaelle Albuquerque, Elen Silva, Artur Bulhões e Larissa Dutra, pela amizade e ajuda concedida durante o desenvolvimento deste trabalho e pelos momentos descontraídos dentro do laboratório, fazendo com que as horas passassem mais rápidas.

Ao professor Dr. Carlos Alberto Garcia Santos, por sua contribuição na identificação botânica da espécie vegetal. Obrigado!

A toda equipe que compõe os Laboratórios de Bromatologia e de Nutrição Experimental, professores, alunos e, especialmente a Jaciel Galdino Melo pela disponibilidade, empenho, companheirismo e toda ajuda no andamento dessa pesquisa.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro com a doação da bolsa.

*A maior perda na vida não é a morte, mas sim o
que morre dentro de você enquanto ainda está
vivo. Nunca se renda!*

Tupac Amaru Shakur

RESUMO

Phyllanthus niruri Linn, espécie herbácea pertencente à família Phyllanthaceae, conhecida popularmente por “quebra-pedra”, é uma planta utilizada na medicina tradicional para tratar várias doenças, principalmente litíase renal. É amplamente estudada quanto a uma variedade de propriedades farmacológicas. No entanto, os efeitos da exposição materna a *P. niruri* permanecem inexplorados. O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos da administração do extrato aquoso de *P. niruri* (EAPN), durante a gestação e lactação, quanto a toxicidade materna sistêmica, ontogênese reflexa neonatal e o desenvolvimento da memória da prole de ratos na vida adulta. Ratas primigestas foram divididas aleatoriamente em três grupos: um controle (n = 8) e dois tratados por via oral (gavagem) com o EAPN (75 e 150 mg/kg/dia) (n = 8/grupo) durante a gestação e lactação. Nas mães foram analisados a evolução ponderal, consumo de ração, parâmetros de fertilidade e o desempenho reprodutivo. Nos filhotes, a maturação dos parâmetros reflexos foram avaliados entre o 1º e 21º dia pós-natal. Na vida adulta (80 a 90 dias pós-natal), os animais foram submetidos aos seguintes testes para avaliação do aprendizado e da memória: teste de habituação ao campo aberto, como exposição repetida após sete dias; e o teste de reconhecimento de objetos, com exposição do animal ao campo aberto a uma sessão de habituação, familiarização e a duas fases de testes. Utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis para os dados não paramétricos e ANOVA unidirecional e bidirecional para dados paramétricos. As diferenças entre grupos foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A exposição materna ao EAPN nas doses de 75 e 150 mg/kg não interferiu no ganho de peso corporal, consumo de ração, parâmetros de fertilidade e o desempenho reprodutivo. Na prole foi observado antecipação no tempo de conclusão da ontogênese reflexa para a maioria dos parâmetros avaliados ($p < 0,05$). Durante a fase adulta os grupos EAPN exibiram diminuição da atividade exploratória, de maneira dependente da dose, e da atividade locomotora após segunda exposição no teste de habituação em campo aberto ($p < 0,05$), indicando facilitação da aprendizagem. Além disso, a exposição ao extrato a 75 e 150 mg/kg induziu melhora significativa e dependente da dose na memória a curto e a longo prazo no teste de reconhecimento de objetos ($p < 0,05$), observada através do aumento estatisticamente significativo do tempo total usado na exploração do objeto novo em comparação ao tempo gasto no objeto familiar. O presente estudo fornece, pela primeira vez, evidências de que a administração do EAPN não induz toxicidade materna e neonatal, acelera a maturação reflexa dos neonatos e melhora a aprendizagem e a memória da prole de forma dose-dependente.

Palavras-chave: *Phyllanthus niruri* Linn, toxicidade materna, desempenho reprodutivo, maturação reflexa, memória.

ABSTRACT

Phyllanthus niruri Linn, an herbaceous species belonging to the Phyllanthaceae family, popularly known as “quebra-pedra”, is a plant used in traditional medicine to treat various diseases, mainly kidney stones. It is widely studied for a variety of pharmacological properties. However, the effects of maternal exposure to *P. niruri* remain unexplored. The present study aimed to evaluate the effects of the administration of the aqueous extract of *P. niruri* (EAPN), during pregnancy and lactation, regarding systemic maternal toxicity, neonatal reflex ontogenesis and the development of the memory of the offspring of rats in life adult. Primigravida rats were randomly divided into three groups: one control (n = 8) and two treated orally (gavage) with EAPN (75 and 150 mg/kg/day) (n = 8/group) during pregnancy and lactation. In mothers, weight evolution, feed intake, fertility parameters and reproductive performance were analyzed. In puppies, maturation of reflex parameters was assessed between the 1st and 21st postnatal days. In adulthood (80 to 90 postnatal days), the animals were subjected to the following tests to assess learning and memory: habituation test to the open field, as repeated exposure after seven days; and the object recognition test, with exposure of the animal to the open field to a habituation, familiarization session and two test phases. The Kruskal-Wallis test was used for non-parametric data and One-Way and Two-Way ANOVA for parametric data. Differences between groups were considered significant when $p < 0.05$. Maternal exposure to EAPN at doses of 75 and 150 mg/kg did not interfere with body weight gain, feed intake, fertility parameters and reproductive performance. In the offspring, anticipation of the time of completion of reflex ontogenesis was observed for most of the evaluated parameters ($p < 0.05$). During adulthood, the EAPN groups showed a decrease in exploratory activity, in a dose-dependent manner, and in locomotor activity after a second exposure in the habituation test in the open field ($p < 0.05$), indicating facilitation of learning. In addition, exposure to the extract at 75 and 150 mg / kg induced a significant and dose-dependent improvement in short and long-term memory in the object recognition test ($p < 0.05$), observed through the statistically significant increase in the total time used to explore the new object compared to the time spent on the familiar object. The present study provides, for the first time, evidence that the administration of EAPN does not induce maternal and neonatal toxicity, accelerates the reflexive maturation of neonates and improves the learning and memory of the offspring in a dose-dependent manner.

Keywords: *Phyllanthus niruri* Linn, maternal toxicity, reproductive performance, reflex maturation, memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Phyllanthus niruri</i> Linn. A) Planta inteira, B) Folha e fruto.....	17
Figura 2. Protocolo experimental. DG: dia gestacional; DPN: dia pós-natal.....	33
Figura 3. Linha temporal para o teste de reconhecimento de objetos.	37
Figura 4. Efeito do tratamento por via oral com EAPN sobre o consumo materno de ração (A) e o ganho de peso corporal materno (B).....	39
Figura 5. Frequência de locomoção no teste de habituação em campo aberto.....	42
Figura 6. Distância total percorrida durante o teste de habituação em campo aberto.....	42
Figura 7. Comparação do tempo de exploração dos objetos familiar e novo no teste de reconhecimento de objetos. (A) Teste de memória a curto prazo. (B) Teste de memória a longo prazo.....	43
Figura 8. Preferência de exploração para o objeto novo durante o teste de memória a curto prazo (A) e de memória a longo prazo (B)	44
Figura 9. Índice de discriminação calculado para o teste de memória a curto prazo (A) e memória a longo prazo (B)	44
Figura 10. Status legal atual dos documentos de patentes recuperados.	76
Figura 11. Evolução temporal dos pedidos de patentes depositados relacionados à <i>P. niruri</i>	77
Figura 12. Evolução anual dos artigos publicados relacionados à <i>P. niruri</i>	79
Figura 13. Número de registros de patentes em função dos países de origem dos titulares dos depósitos.	80
Figura 14. Número de artigos publicados em função dos principais países de origem	81
Figura 15. Distribuição relativa da família de patentes.....	83
Figura 16. Principais instituições detentoras de patentes relacionadas à <i>P. niruri</i>	84
Figura 17. Códigos de Classificação Internacional de Patentes atribuídas as patentes relacionadas à <i>P. niruri</i>	85
Figura 18. Principais códigos de classificação atribuídas as patentes relacionadas à <i>P. niruri</i> – expansão das subclasses em grupos principais.....	86
Figura 19. Principais áreas de conhecimento dos artigos analisados, segundo a base <i>Web of Science</i>	87

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estudos não clínicos realizados para <i>P. niruri</i>	20
Quadro 2. Efeitos toxicológicos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal da prole, resultado da administração de espécies vegetais durante a gestação e/ou lactação em roedores.....	29
Quadro 3. Procedimentos para avaliação da ontogênese reflexa.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Desempenho reprodutiva de ratas tratadas diariamente com EAPN do 7º dia de gestação ao 21º dia de lactação.	40
Tabela 2. Ontogênese reflexa da prole de ratas expostas ao extrato de <i>P. niruri</i> durante o período gestacional e lactacional.	41
Tabela 3. Número de documentos de patentes recuperadas por banco de dados.	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
AChE	Enzima Acetilcolinesterase
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BChE	Enzima Butirilcolinesterase
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CC50	Concentração Citotóxica Mediana
CEUA	Comitê de Ética para Uso de Animais
CHIKV	Vírus Chikungunya
CIP	Classificação Internacional de Patentes
CIPO	Canadian Intellectual Property Office
CSTR	Centro de Saúde e Tecnologia Rural
DL50	Dose Letal Mediana
DP	Desvio Padrão
EAPN	Extrato Aquoso de <i>Phyllanthus niruri</i>
EP	Organização Europeia de Patentes
EPM	Erro Padrão da Média
EPO	European Patent Office
ID	Índice de Discriminação
INPI	Instituto Nacional da Propriedade Industrial
IR	Índice de Reconhecimento
JPO	Japan Patent Office
LANEX	Laboratório de Nutrição Experimental
OF	Objeto Familiar
ON	Objeto Novo
PD&I	Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação
PIB	Produto Interno Bruto
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
TOF	Tempo no Objeto Familiar
TON	Tempo no Objeto Novo
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
USPTO	United States Patent and Trademark Office
WIPO	World Intellectual Property Organization
WO	Organização Mundial de Propriedade Intelectual

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. OBJETIVO GERAL.....	16
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3. REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE <i>Phyllanthus niruri</i> L.....	17
3.1.1. Informação botânica	17
3.1.2. Constituintes químicos	18
3.1.3. Uso tradicional	19
3.1.4. Atividades farmacológicas	19
3.1.5. Toxicologia	23
3.1.6. Estado da técnica	24
3.2. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL	25
3.3. PLANTAS MEDICINAIS DURANTE A GESTAÇÃO E/OU LACTAÇÃO	26
3.4. EXPOSIÇÃO A PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO PRÉ E PÓS-NATAL	27
4. METODOLOGIA	32
4.1. MATERIAL VEGETAL.....	32
4.2. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS	32
4.3. TOXICIDADE MATERNA SISTÊMICA	34
4.3.1. Consumo de ração e evolução ponderal	34
4.3.2. Performance reprodutiva	34
4.4. ONTOGÊNESE REFLEXA.....	34
4.5. TESTES COMPORTAMENTAIS.....	35
4.5.1. Teste de Habituação ao Campo Aberto	35
4.5.2. Teste de Reconhecimento de Objetos	36
4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5. RESULTADOS	39
5.1. CONSUMO DE RAÇÃO E EVOLUÇÃO PONDERAL MATERNA DE RATAS EXPOSTAS AO EXTRATO DE <i>P. niruri</i>	39
5.2. PERFORMANCE REPRODUTIVA MATERNA DE RATAS EXPOSTAS AO EXTRATO DE <i>P. niruri</i>	39
5.3. EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA À <i>P. niruri</i> SOBRE A ONTOGÊNESE REFLEXA NOS NEONATOS	40

5.4. EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA AO EXTRATO SOBRE A MEMÓRIA DA PROLE NA IDADE ADULTA.....	41
5.4.1. Teste de Habituação ao Campo Aberto.....	41
5.4.2. Teste de Reconhecimento de Objetos	43
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÃO	52
REFERÊNCIAS	53
APÊNDICE	70

1. INTRODUÇÃO

A exposição a substâncias químicas, durante a gestação e/ou lactação, pode atingir diferentes órgãos do concepto em desenvolvimento, através do transporte sanguíneo placentário ou pelo leite materno. (HOLLENBACH et al., 2010; LEE et al., 2018). Entre eles, o cérebro, que tem como período de maior susceptibilidade, o período que compreende o início do terceiro trimestre de gestação até os primeiros anos de vida, em humanos, e a partir da última semana de gestação até a terceira semana de vida pós-natal, em ratos (MORGANE et al., 1993; KHALAF-NAZZAL; FRANCIS, 2013). O adequado desenvolvimento do sistema nervoso pode ser afetado diretamente pela exposição intrauterina e neonatal à agentes químicos diversos (TAHERI et al., 2019), estando normalmente associado a efeitos adversos no neurodesenvolvimento.

A relação entre as plantas medicinais e o desenvolvimento do sistema nervoso é geralmente evidenciada pelo efeito tóxico provocado pela exposição materna à extratos de plantas ou a fitoconstituintes sobre a maturação dos reflexos neurológicos, desenvolvimento neurocomportamental e a função cognitiva, relatado em vários estudos experimentais (BEDADA; ENGIDAWORK, 2010; XUYING et al., 2010; SANDINI et al., 2014; ABU-TAWEEL, 2018; LAADRAOUI et al., 2018). No entanto, alguns poucos estudos, durante a gestação e/ou lactação em modelo animal, têm demonstrado, além de completa ausência de efeitos tóxicos sobre a maturação do sistema nervoso (YIMAM et al., 2015), melhora do desempenho cognitivo e da memória da prole em várias fases da vida (YAGHMAEI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; SHARIFABAD; ESFANDIARY, 2012; TAHERI et al., 2019).

Uma importante planta medicinal amplamente estudada quanto as suas propriedades farmacológicas, é a *Phyllanthus niruri* Linn, espécie herbácea pertencente à família Phyllanthaceae. Esta erva é encontrada em regiões tropicais e subtropicais (KAUR et al., 2017; MEDIANI et al., 2017; SANTOS et al., 2018), em especial na América do Sul, Índia e China (ROCHA et al., 2018), apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro, onde é conhecida popularmente como “quebra-pedra” e/ou “arrebenta-pedra”, ocorrendo nos biomas Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (SECCO et al., 2015).

Na medicina tradicional a *P. niruri* é amplamente utilizada no tratamento de doenças em diversas partes do mundo. Estudos experimentais com modelos *in vivo* demonstraram a ampla variedade de propriedades farmacológicas para a *P. niruri*, como hepatoprotetora (AMIN et al., 2012), antiulcerogênica gástrica (KLEIN-JÚNIOR et al., 2017), atividade protetora renal contra danos oxidativos (GIRIBABU et al., 2014), antidiabética em ratos diabéticos obesos

(MEDIANI et al., 2016), antiviral contra o vírus da hepatite B (LIU et al., 2014) e antiurolítico (PUCCI et al., 2018). Além disso, Asare et al. (2012) e Queiroz et al. (2013) demonstraram através de estudos de avaliação da toxicidade que animais tratados com *P. niruri* não apresentaram efeitos genotóxico, citotóxico e, após exposição ao extrato por 90 dias, não exibiram toxicidade hepato-renal. No entanto, não se tem conhecimento dos efeitos da *P. niruri* sobre uma prole cujas mães foram tratadas durante a gestação e lactação.

Baseado no exposto, objetivamos com a presente pesquisa avaliar os efeitos do tratamento materno durante a gestação e lactação, com o extrato das partes aéreas de *P. niruri*, sobre a maturação reflexa e o desenvolvimento da memória da prole. Além disso, a evolução ponderal, o consumo de ração e a performance reprodutiva materna também foram avaliadas quanto aos possíveis efeitos tóxicos provocados às progenitoras, durante o período de administração.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do tratamento materno com o extrato aquoso de *Phyllanthus niruri* durante a gestação e lactação de ratas Wistar e sua influência sobre o desenvolvimento neurocomportamental da prole na lactação e na vida adulta.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a evolução ponderal e o consumo de ração quanto a possíveis efeitos tóxicos provocados às progenitoras, durante o período de administração.

Avaliar a performance reprodutiva materna.

Investigar o desenvolvimento da maturação reflexa neonatal.

Analisar o desempenho cognitivo da prole na vida adulta utilizando os testes de habituação em campo aberto e o teste de reconhecimento de objetos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE *Phyllanthus niruri* L.

3.1.1. Informação botânica

Phyllanthus niruri Linn., espécie pertencente à família Phyllanthaceae, é conhecida popularmente como “quebra-pedra”, “arrebenta-pedra” e “erva-pombinha”, distingue-se de outras espécies do gênero *Phyllanthus* (*P. amarus*, *P. tenellus* e *P. urinaria*), semelhantes vegetativamente e conhecidas pelos mesmos nomes populares, por apresentar discretas diferenças macroscópicas, sendo facilmente diferenciadas pela base foliar (simétrica retusa em *P. amarus*, aguda em *P. tenellus* e assimétrico-cordada em *P. niruri*), número de estames no androceu (5 ou 6 em *P. tenellus*, 2 em *P. amarus* e 3 em *P. niruri*), frutos (que são ornamentados em *P. urinaria* e lisos em *P. niruri*) e pela união dos estames que ocorre em *P. urinaria* e *P. amarus* e não ocorre em *P. niruri*, entre tantas outras características (MARTINS; LIMA, 2011; MARTINS et al., 2014; MARTINS et al., 2017).

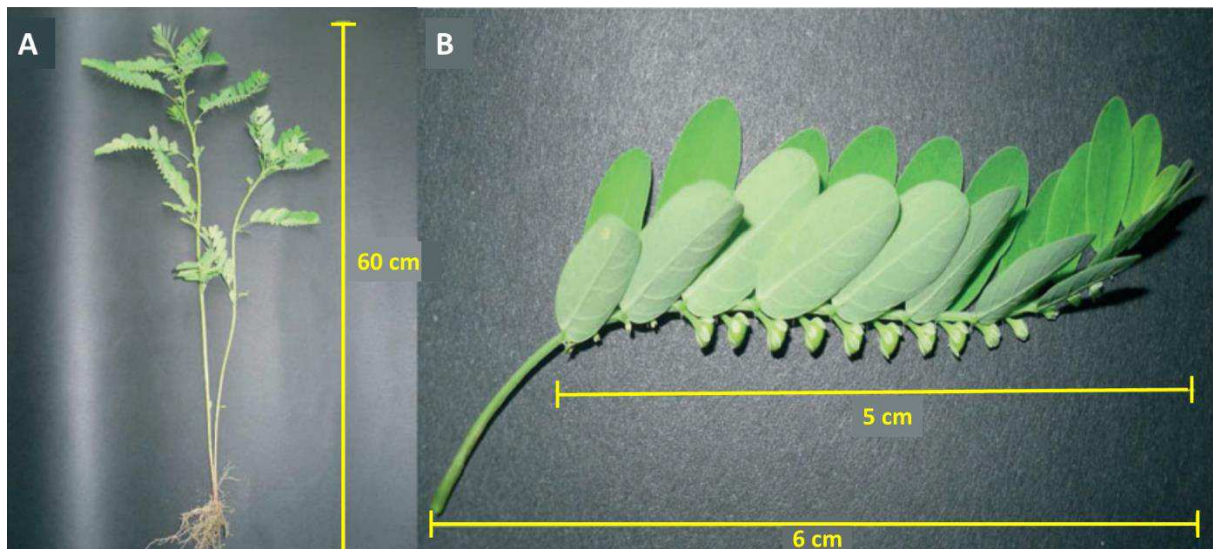


Figura 1. *Phyllanthus niruri* Linn. A) Planta inteira, B) Folha e fruto.

Fonte: Kaur et al. (2017).

Macroscopicamente, a *P. niruri* se apresenta ainda como uma planta herbácea, glabra, de caules simples ou ramificados. Esta espécie pode atingir de 60 a 80 cm de altura (Figura 1 A). Suas folhas são alternas, dísticas, simples, membranáceas, glabras, oblongo-elípticas, de ápice atenuado, às vezes mucronado e base assimétrica, margem lisa; lâminas discolores, face

adaxial de cor verde-oliva e face abaxial verde-pálida a cinza-pálida (Figura 1 B). Flores femininas isoladas e axilares nos nós apicais, com cinco tépalas elípticas e disco inteiro, carnosos; ovário tricarpelar, trilocular. Flores masculinas em fascículos de uma a duas flores, dispostas nos nós basais, com cinco tépalas largo-ovaladas e três estames com filetes conatos na base. Frutos esquizocárpicos expostos para a região abaxial dos ramos com cálice persistente, membranáceo, desenvolvido (BRASIL, 2010a).

Esta espécie é encontrada no Brasil, China, Índia e África e em todos os países tropicais e subtropicais (KAUR et al., 2017; MEDIANI et al., 2017; ROCHA et al., 2018; SANTOS et al., 2018). No Brasil, é encontrada nos biomas Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (SECCO et al., 2015).

3.1.2. Constituintes químicos

Através de triagens fitoquímicas, preliminar e cromatográfica, várias classes de metabólitos secundários têm sido identificadas, principalmente nas folhas, a citar: antraquinonas agliconas e glicosídicas, flavonoides, terpenóides, naftoquinonas, saponinas, carboidratos, esteroides, taninos, alcaloides, ligninas, lignanas, cumarinas e cumarinas glicosídicas (GIRIBABU et al., 2014; MOSTOFA et al., 2017; AL ZARZOUR et al., 2017). Os extratos aquoso, etanólico e metanólico são os mais utilizados na obtenção dos vários constituintes químicos. Entre os vários fitoconstituintes identificados até o momento, os taninos representam a classe de metabólitos secundários mais comumente encontrados. A investigação química das folhas desta planta levou ao isolamento de uma série taninos, dos quais destacam-se os derivados do ácido elágico, corilagina, isocorilagina, ácido repandusínico A, 1-O-galoil-3,6-hexahidroxi-difenil-glicopiranosídeo; Galoíl-glicopiranosídeo, ácido chebulagico e etil brevifolin-carboxilato (LEE et al., 2011; SPRENGER; CASS, 2013; ZHENG et al., 2016; BEIDOKHTI et al., 2017; KUMAR et al., 2017)

Entre as diferentes classes químicas presentes na planta, destacam-se os compostos: *D*-Norpseudofedrina, alcaloide com ação antiulcerogênica (PATIL et al., 2017); Corilagina, tanino com atividade antitumoral e antiulcerogênica gástrica (ZHENG et al., 2016; KLEIN-JÚNIOR et al., 2017); Isocorilagina, tanino com atividade antiacetilcolinesterase e antibutirilcolinesterase (KOAY et al., 2014); e as lignanas, Nirtretalina A, Nirtretalina B e Nirantina, que exibiram atividade antiviral, *in vitro* e *in vivo*, contra o vírus da hepatite B (WEI et al., 2012; LIU et al., 2014).

3.1.3. Uso tradicional

P. niruri é amplamente utilizada na medicina tradicional e seu emprego varia de acordo com a localidade, sendo utilizada principalmente no tratamento de doenças do sistema digestivo, no continente Asiático, no tratamento de doenças do sistema urinário, na América do Sul, e no tratamento da malária, no continente Africano (MAO et al., 2016). No continente asiático, esta espécie é utilizada em importantes sistemas de medicina tradicionais, como o *Ayurveda* da Índia e na Medicina Tradicional Chinesa.

As partes aéreas compreendem a parte da planta mais utilizada pela população, enquanto o chá/infusão é o modo de preparo mais frequente (OLIVEIRA; MENINI NETO, 2012). Do ponto de vista etnofarmacológico, o chá é muito utilizado na medicina popular no Brasil e em vários outros países, principalmente no combate de cálculos renais e biliares, no tratamento da hipertensão arterial, diarreia, hepatites B e C, e devido suas ações analgésica, relaxante muscular e dos ureteres (PAITHANKAR et al., 2011).

Diante de sua importância na medicina popular, no ano de 2009, o Ministério da Saúde incluiu a *P. niruri* na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), juntamente com outras 70 plantas medicinais (BRASIL, 2009). No ano seguinte, 2010, esta espécie foi incluída na lista elaborada pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), contendo várias plantas medicinais de uso tradicional com efeito comprovado cientificamente, apresentando as formas corretas de uso, efeitos adversos e contraindicações. Entre as contraindicações, está o uso durante a gravidez e lactação (BRASIL, 2010b), porém sem comprovação científica.

3.1.4. Atividades farmacológicas

Vários estudos não clínicos *in vitro* e *in vivo* foram relatados para a *P. niruri*, no qual a maioria dos estudos investigaram suas propriedades hepatoprotetora, antioxidante, antidiabética, antiulcerogênica gástrica, antiurolítica, anti-inflamatória e anticâncer, como descrito resumidamente no Quadro 1, que apresenta uma visão geral das principais atividades farmacológicas estudadas (*in vitro* e *in vivo*) nos últimos anos. Quanto ao tipo de extrato, a maioria dos estudos utilizou os extratos aquoso, etanólico e metanólico para avaliação das atividades.

Quadro 1. Estudos não clínicos realizados para *P. niruri*

(continua)

Atividade biológica	Parte da planta	Extrato	Referência
Atividade hepatoprotetora contra a doença hepática gordurosa não alcoólica, demonstrada através do efeito antiangiogênico, da regulação de adipocitocinas e redução da expressão de genes adipogênicos	Planta inteira	Extrato metanólico	Al Zarzour et al., 2018
Antiurólítica demonstrada através da redução do número e tamanho dos cálculos renais e da inibição da formação de cálculos de cálcio. Em pacientes com hiperoxalúria e hiperuricosúria o extrato diminui significativamente o oxalato urinário e ácido úrico	Folhas	Extrato aquoso	Pucci et al., 2018
Imunomodulador na tuberculose	Folha	Extrato aquoso	Putri et al., 2018
Atividade antiviral contra o vírus Chikungunya (CHIKV) - atividade anti-Chikungunya	Folhas	Extrato aquoso (nanopartículas de prata)	Sharma et al., 2018
Hepatoprotetor, antioxidante e hipolipidêmico	Planta inteira	Extrato metanólico	Al Zarzour et al., 2017
Antidiabética (inibidores da α -glicosidase)	Partes aéreas	Extrato aquoso	Beidokhti et al., 2017
Hepatoprotetora, após a exposição a Indometacina, demonstrada através da modulação dos reguladores da via inflamatória e apoptótica	Folhas	-	Bhattacharyya et al., 2017
Atividade anti-inflamatória, antiapoptótica, antioxidante e proliferativa renal, todas envolvidas com complicações do diabetes (nefropatia diabética)	Folha	Extrato aquoso	Giribabu et al., 2017
Antioxidante, antiulcerogênica gástrica e gastroprotetora, demonstrado pelo aumento na produção de muco, redução do dano oxidativo e da infiltração de neutrófilos	Planta inteira	Extrato metanólico	Klein-Júnior et al., 2017
Antioxidante e atividade inibidora da enzima α -glicosidase	Planta inteira	Extrato hidroetanólico	Mediani et al., 2017

Quadro1. Estudos não clínicos realizados para *P. niruri*

(continua)

Atividade biológica	Parte da planta	Extrato	Referência
Anti-inflamatória e antiulcerogênica gástrica	Folha	Extrato metanólico	Mostofa et al., 2017
Antioxidante e citotóxica contra linhagens celulares de adenocarcinoma gástrico	Partes aéreas	Extrato rico em compostos fenólicos	Navarro et al., 2017
Antirolítica (inibidor do oxalato de cálcio)	Folha e fruto	Extrato aquoso	Patil et al., 2017
Antioxiante e Hepatoprotetor	-	Extrato etanólico	Shanmugam et al., 2017
Antibacteriano contra organismos cariogênicos (<i>Streptococcus sanguis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. oralis</i> e <i>S. mutans</i>)	Folha	Extrato etanólico	Sunitha et al., 2017
Atividade antimetastática e antiproliferativa demonstrada pela supressão da expressão de enzimas envolvidas na progressão tumoral	Planta inteira	Extratos aquoso e metanólico	Lee et al., 2016
Antidiabética com ação hipoglicemiante e hipolipemiante	Partes aéreas	Extrato hidroalcólico	Mediani et al., 2016
Antitumoral contra linhagens celulares de hepatocarcinoma humano	Planta inteira	Fração acetato de etila	Zheng et al., 2016
Hipoglicemiante	Folha	Extrato aquoso	Fernández et al., 2015
Anti-inflamatória intestinal, demonstrada através da redução do estresse oxidativo e redução de citocinas pro-inflamatórias	Folhas e caule	Extrato aquoso	Melo et al., 2015
Promotora do crescimento capilar demonstrada <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> através da inibição da 5-alfarredutase	Partes aéreas	Extrato de éter de petróleo	Patel et al., 2015
Atividade antimetastática, demonstrada através da inibição das atividades de adesão celular, invasão e migração transendotelial de células cancerosas e redução da atividade enzimas envolvidas na progressão tumoral	Planta inteira, exceto a raiz	Extratos aquoso e metanólico	Tang et al., 2015
Citoprotetor de células do fígado e do baço, expostas ao ácido acetil salicílico, demonstrada através do efeito antioxidante e da ativação das vias de sobrevivência celular	Folha	-	Bhattacharyya et al., 2014

Quadro1. Estudos não clínicos realizados para *P. niruri*

(continuação)

Atividade biológica	Parte da planta	Extrato	Referência
Antioxidante e efeito protetor renal em ratos diabéticos, demonstrado pela proteção contra o estresse oxidativo	Folha	Extrato aquoso	Giribabu et al., 2014
Atividade inibitória contra a acetilcolinesterase e butirilcolinesterase	Folha	Extrato metanólico	Koay et al., 2014
Antiviral, <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> , contra o vírus da Hepatite B e hepatoprotetor	Planta inteira	Extrato metanólico	Liu et al., 2014
Inibidora da formação de cálculos de oxalato de cálcio em urina sintética	-	Extrato aquoso	Rodgers et al., 2014
Antiproliferativa, antimetastática e antiangiogênese sobre a linhagem de melanoma	-	Extratos aquoso e metanólico	Tang et al., 2014

Os extratos obtidos das folhas de *P. niruri* demonstraram notável atividade antioxidante, em diferentes modelos *in vivo*, demonstrado através da diminuição dos níveis de malonaldeído e do aumento da atividade das enzimas antioxidativas, superóxido dismutase, catalase, glutatona redutase e glutatona *S*-transferase (BHATTACHARYYA et al., 2014, 2017; GIRIBABU et al., 2014).

Estudos demonstram a atividade potencial de *P. niruri* no tratamento da litíase urinária, cujas propriedades apresentadas são importantes do ponto de vista farmacológico, devido às alternativas terapêuticas serem muito limitadas para o tratamento dessa doença (RODGERS et al., 2014; PATIL et al., 2017 e PUCCI et al., 2018).

O extrato metanólico obtido das folhas de *P. niruri* foi investigado *in vitro* quanto a capacidade em inibir as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE). Koay et al. (2014), demonstraram que o extrato exibiu potencial atividade inibitória, bem como o tanino isolado, Isocorilagina, que exibiu propriedade inibitória contra a AChE e BChE duas a três vezes mais potente que o inibidor clinicamente utilizado no tratamento da doença de Alzheimer, Galantamina, podendo ser um potencial candidato para a descoberta de novos agentes inibidores da colinesterase, eficaz para o tratamento do Alzheimer.

Outra importante atividade avaliada, refere-se ao potencial contra o vírus Chikungunya (CHIKV), o qual é transmitido em humanos por mosquitos fêmeas *Aedes aegypti*. Os resultados indicaram que o uso de nanopartículas de prata de *P. niruri* como agente antiviral é viável e

pode fornecer opções alternativas de tratamento contra a doença causada pelo CHIKV, que ainda não possui terapia farmacológica ou vacinas específicas (SHARMA et al., 2018).

3.1.5. Toxicologia

A toxicidade foi investigada em vários tipos de extratos feitos de folhas ou de toda a planta, através de modelos de toxicidade *in vitro* e *in vivo*. O extrato etanólico de *P. niruri* foi avaliado durante um período de 90 dias quanto a genotoxicidade *in vivo*, através do teste de micronúcleos em células hematopoiéticas (eritrócitos da medula óssea), para avaliação do dano cromossômico. Os resultados desse estudo mostram que após o tratamento com extrato nas doses de 30 e 300mg/kg, os ratos não apresentaram efeito genotóxico, indicativo de ausência de dano cromossômico induzido (ASARE et al., 2012). Além disso, nesse mesmo estudo foi avaliado o potencial citotóxico do extrato, que exibiu uma concentração citotóxica mediana (CC50) de 26,3 µg/mL, considerada não citotóxica. Similarmente, o extrato aquoso de *P. niruri* administrado durante um período de 30 dias também foi avaliado quanto as atividades genotóxicas e citotóxicas em células da medula óssea de ratos Wistar. Os resultados do estudo revelaram que a administração oral subcrônica do extrato a 50, 100 e 250 mg/kg não exibiu nenhum potencial genotóxico ou citotóxico (QUEIROZ et al., 2013).

Em estudo de toxicidade sobre a função reprodutiva masculina, conduzido por Ezeonwu (2011), o extrato aquoso de *P. niruri* exibiu efeitos antifertilidade, que segundo o autor foi devido o potencial de penetração na barreira hematotesticular, de compostos bioativos presentes no extrato. Nesse estudo, doses superiores a 200 mg/kg, causaram depleção significativa do nível de frutose do fluido seminal e redução da viabilidade espermática, mobilidade e contagem de espermatozoides.

Um importante ensaio de toxicidade que permite a avaliação inicial do perfil toxicológico de uma determinada substância, é o estudo de toxicidade aguda, o qual é indispensável para o estabelecimento de doses a serem utilizadas em estudos subcrônicos (BIGHETTI et al., 2004). Em camundongos, os resultados do estudo de toxicidade oral aguda revelaram que o extrato aquoso de *P. niruri* não apresentou toxicidade até a dose de 2000 mg/kg, sugerindo que a administração do extrato até a dose máxima tolerada é considerada segura para uso em animais (THIPPESWAMY et al., 2011). Por sua vez, Thakur et al. (2011), verificaram que o extrato aquoso de *P. niruri*, além de não ser tóxico até 2000 mg/kg, administrado via intraperitoneal, também não observou nenhum sinal clínico ou qualquer efeito adverso em camundongos até 14 dias após a administração.

Em estudo de toxicidade aguda realizado em ratos machos e fêmeas Sprague Dawley, o extrato aquoso das folhas de *P. niruri* exibiu uma dose letal mediana (DL50) superior a 5 g/Kg, sem presença de mortalidade ou qualquer outro efeito adverso, após uma única administração, via oral, do extrato nas doses de 2 e 5 g/Kg (ABDULLA et al., 2010; ASARE et al., 2011). Reforçando os dados referentes a dose máxima tolerada, a administração do extrato etanólico por via oral, em estudo de toxicidade aguda, exibiu ausência de toxicidade *in vivo* a ratos machos e fêmeas da linhagem Sprague-Dawley, exibindo uma DL50 superior a 3 g/kg (AMIN et al., 2012; ASARE et al., 2012). Substâncias com valores de DL50 na faixa de 1 a 5 g/kg são consideradas pouco tóxicas, já as que exibem DL50 superior a 5,0 g/kg são considerados praticamente não tóxicas, de acordo com a classificação de toxicidade (LOOMIS, 1968; TRAPÉ 1994). Sendo assim, estes estudos demonstram que o tratamento oral agudo com *P. niruri* é praticamente não tóxico.

Quando avaliados em estudo de toxicidade de doses repetidas, os extratos de *P. niruri* também não se mostraram ser tóxicos em dois ensaios de toxicidade com diferentes períodos de duração (ASARE et al., 2012; QUEIROZ et al., 2013). Estes estudos tiveram como objetivo, caracterizar o perfil toxicológico dos extratos de *P. niruri* pela administração repetida. No ensaio de toxicidade por dose subcrônica, com duração de 90 dias, realizado por Asare et al. (2012), a administração subcrônica, via oral, do extrato etanólico de *P. niruri* a 30 e a 300 mg/Kg a ratos fêmeas, não se mostrou tóxico, sem qualquer alteração importante nos parâmetros bioquímicos e hematológicos e sem anormalidades histopatológicas nos órgãos analisados. Adicionalmente, a administração oral subcrônica do extrato aquoso a 50, 150 e 250 mg/kg/dia durante 30 dias não exibiu toxicidade geral (QUEIROZ et al., 2013).

3.1.6. Estado da técnica

Em virtude da importância da *P. niruri*, há um grande interesse de diferentes setores industriais, instituições de pesquisas e dos centros acadêmicos no estudo e proteção tecnológica de produtos e processos relacionados a esta espécie, sendo a Índia, a China, o Japão e os Estados Unidos, os principais interessados, conforme informações obtidas na base de dados de patentes *Derwent Innovation Index*[®], base de dados de patentes da *Clarivate Analytics* (WEB OF SCIENCE, 2019).

Nos últimos anos as pesquisas referentes à espécie em questão, têm sido voltadas não só para aplicação medicinal, mas também para o desenvolvimento e inovação de formulações e produtos cosméticos, a citar as seguintes patentes: produção de uma fração de baixo peso

molecular, útil para tratar os sinais de envelhecimento da pele (GARAY et al., 2014); invenção de uma composição para tratar sinais de envelhecimento da pele (KAUR et al., 2016); e a invenção de um creme dental e seu método de preparação (YONG, 2015). Já no campo da medicina, atualmente destacam-se patentes de invenção como, preparação de uma formulação da medicina tradicional chinesa para o tratamento da hepatite B (TONGYONG, 2015); invenção de uma formulação para tratamento da alopecia androgenética (queda de cabelo) (MEENA, 2015); invenção de um colutório antibacteriano (JINQIANG, 2017) e um método para aumentar os compostos bioativos da *P. niruri* (INDU BALA; CHANDRADEVAN, 2017).

3.2. DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E FETAL

O desenvolvimento embrio-fetal de mamíferos pode ser dividido em quatro períodos: pré-implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e período neonatal. O período correspondente ao desenvolvimento inicial (pré-implantação e implantação embrionária) compreende o período que vai desde a fecundação até a implantação do blastocisto no útero, que ocorre antes da segunda semana de desenvolvimento em humanos e até o 6º dia em ratos, aproximadamente, é caracterizada pela presença do embrião com células totipotentes em divisão (FRITZ; GIESE, 1990; LEMONICA, 2008). Neste período a exposição a um agente tóxico pode impedir a implantação do blastocisto no útero (ROGERS; KALVLOCK, 2012).

Após a implantação, inicia-se a fase de organogênese, com início da segunda à oitava semana pós-fecundação em mulheres e que vai do 7º ao 15º dia em ratos. Esse período é caracterizado por uma intensa proliferação e migração celular, remodelamento tissular e formação rudimentar das estruturas e órgãos do corpo (BRENT et al., 1993; LEMONICA, 2008). O final da organogênese marca o início da terceira fase, conhecida como período fetal, que é caracterizada por diferenciação e crescimento tissular, maturação fisiológica dos diferentes sistemas e crescimento ponderal do feto, compreende oito semanas completas pós-fertilização até o termo em mulheres e em ratos corresponde do 16º ao 21º dia de prenhez (FRITZ; GIESE, 1990; ROGERS; KALVLOCK, 2012). Nesse período, todos os órgãos estão presentes e grosseiramente reconhecíveis, embora ainda não desenvolvidos por completo, o sistema nervoso central, bem como o crescimento ponderal do feto ainda estão em diferenciação (LEMONICA, 2008). Após esta fase, dá-se início ao período neonatal, que ocorre apenas crescimento e maturação fisiológica. Vai até o 28º dia após o nascimento em humanos e até o 10º dia em ratos, compreendendo o início da lactação.

Quanto aos efeitos adversos provocados por agentes químicos durante os períodos de exposição, durante a pré-implantação, chamado de período do “tudo ou nada”, a exposição materna a agentes tóxicos geralmente resulta em nenhum ou ligeiros efeitos sobre o crescimento ou embriofetividade, dependendo do número de células atingidas; a organogênese é o período de maior susceptibilidade à ação de agentes químicos e único período teratogênico da gestação, sendo considerado o período mais crítico, no qual o maior número de malformações pode ser induzido; e por fim, o período fetal em que a exposição materna pode indubitavelmente interferir com processos de proliferação celular que resultam em alterações funcionais de importantes sistemas, como Sistema Nervoso Central, além de causar retardo geral de desenvolvimento (BRENT et al., 1993; AUROUX, 1997; LEMONICA, 2008; ROGERS; KAVLOCK, 2012).

3.3. PLANTAS MEDICINAIS DURANTE A GESTAÇÃO E/OU LACTAÇÃO

A utilização de plantas com finalidades terapêuticas durante a gestação ocorre devido as gestantes buscarem em produtos naturais a solução para atenuar alguns problemas de saúde que podem surgir, como gripes e resfriados, bem como alguns dos sintomas advindos da própria gestação (náuseas, vômitos, constipação intestinal, azia, etc), que são provenientes de modificações inerentes a esse processo e que ocorrem no organismo feminino, com a finalidade de adaptar o mesmo a manutenção e o desenvolvimento normal da gestação (GORRIL et al., 2016; DUARTE et al., 2017). Junta-se a este fato a crença da inocuidade, erroneamente, atribuída aos produtos à base de plantas, o fácil acesso, baixo custo e a isenção de prescrição médica.

Dados obtidos na literatura demonstram que a utilização de plantas medicinais durante a gestação é uma prática medicinal comum, observada não só no Brasil, mas também em outros países, tais como Itália, Finlândia, Noruega e Austrália (TRABACE et al., 2015). A utilização de plantas para fins medicinais tem como principais motivações que levam ao seu uso, as seguintes queixas: constipação intestinal e problemas relacionados ao Sistema Nervoso Central (irritabilidade, ansiedade, nervosismo, tensão emocional, entre outros), uma vez que algumas das plantas medicinais com as referidas indicações terapêuticas são as mais utilizadas pelas gestantes (CLARKE et al., 2007). Já durante a lactação, o uso de algumas espécies de plantas medicinais se dá, em parte, em virtude de seu efeito sobre a estimulação e manutenção da produção adequada de leite materno. No entanto, inúmeras plantas medicinais possuem

contraindicações de uso, principalmente na gravidez, por ocasionarem dano fetal ou por não terem seus estudos toxicológicos concluídos (ARCANJO et al., 2013).

Todavia, existem muitas plantas que são utilizadas por mulheres no período gestacional para diversas finalidades terapêuticas. Em estudo de Souza et al. (2013), sobre o uso das plantas medicinais durante a gestação, são relatadas as principais espécies de uso corriqueiro por mulheres durante a gestação e os principais usos medicinais, destacando-se a *Peumus boldus* (boldo-do-chile), *Baccharis trimera* (carqueja), *Cassia angustifolia* (sene), *Ruta graveolens* (arruda) e a *Chamomilla recutita* (camomila), as quais eram empregadas principalmente para amenizar dores estomacais ou como digestivos, para resfriados e em cólicas menstruais.

De acordo com Trabaci et al. (2015), apesar da enorme popularidade e da vasta utilização da fitoterapia, atualmente pouco se sabe sobre os efeitos e, principalmente, o perfil de segurança das plantas medicinais e dos medicamentos fitoterápicos mais utilizados durante a gravidez, em que ao contrário dos medicamentos alopáticos, esses produtos geralmente não possuem um rigoroso suporte científico que demonstre segurança ou eficácia, e menos ainda quando se leva em consideração o perfil toxicológico e os resultados na gravidez e/ou em neonatos.

3.4. EXPOSIÇÃO A PLANTAS MEDICINAIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO PRÉ E PÓS-NATAL

Ensaio biológicos pré-clínicos realizados com algumas espécies de plantas estão descritos resumidamente no Quadro 2, o qual apresenta uma relação de 17 plantas medicinais com efeitos tóxicos provocados nas progenitoras e na prole. O critério utilizado para organização do quadro foi a ordem alfabética para o nome da família das plantas. Os estudos confirmam a ocorrência de toxicidade materna demonstrada pela redução no ganho de peso corporal e na ingestão de alimentos e água durante a prenhez para as espécies *Senecio brasiliensis* (SANDINI et al., 2014) e *Camellia sinensis* que além desses efeitos (WANG et al., 2013), induziu nefrotoxicidade e sintomas semelhantes à pré-eclâmpsia, caracterizados por aumento do nível de citocinas pró-inflamatórias e diminuição do nível de citocinas anti-inflamatórias (DEY et al., 2018).

Quanto aos efeitos provocados sobre o desenvolvimento geral da prole, seja durante o pré ou no pós-natal, alguns resultados foram menos acentuados que outros, se caracterizando apenas como indícios de toxicidade, como aqueles obtidos com as seguintes plantas medicinais: *C. Sinensis* (WANG et al., 2013), *Eurycoma longifolia* (LOW et al., 2014) e *Ferula gummosa*

(VAHEDI et al., 2018), nos quais seus extratos induziram apenas uma diminuição significativa de peso corpóreo após o nascimento, indicando um possível comprometimento no desenvolvimento físico da prole (GERENUTTI et al., 1992).

Estudos realizados com roedores durante a prenhez mostraram que *Artemisia herba-alba* (LAADRAOUI et al., 2018), *Origanum vulgare* (HOLLENBACH et al., 2017), *Rhodiola kirilowii* (ZDANOWSKI et al., 2014; LEWICKI et al., 2015, 2017), *Simaba ferrugínea* (VANZELER et al., 2015), *Trichilia catigua* (SANTOS et al., 2015) e *Trigonella foenum-graecum* (KHALKI et al., 2010) apresentaram efeitos que podem ser prejudicial aos conceptos, devido a ocorrência de embriofetalidade, que se refere à perturbações que ocorrem durante o desenvolvimento embrionário, resultando em abortos espontâneos ou em natimortos.

Toxicidade sobre o desenvolvimento sexual da prole foi demonstrada em estudos conduzidos com os extratos de *Hibiscus sabdariffa* (ARRUDA et al., 2015) e *Passiflora incarnata* (BACCHI et al., 2013), ao serem avaliados quanto aos efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento geral e sexual das progênes expostas aos extratos nos períodos perinatal (in útero) e pós-natal (lactação). Enquanto a ocorrência de malformações externas foram registradas nos estudos conduzidos com as espécies *Momordica Charantia* (UCHE-NWACHI; MCEWEN, 2010), *Nicotiana humilis* (KHALKI et al. 2012) e *T. foenum-graecum* (KHALKI et al. 2010).

Outras evidências toxicológicas provocados em filhotes de roedores tratados durante a gestação e/ou lactação com extratos e produtos obtidos de plantas medicinais, se caracterizam por retardo ao desenvolvimento físico e a maturação do sistema nervoso, sendo estes descritos nos estudos realizados com as seguintes espécies medicinais: *Artemisia herba-alba* (LAADRAOUI et al., 2018), *Astragalus membranaceus* (XUYING et al., 2010), *Catha edulis* (BEDADA; ENGIDAWORK, 2010), *C. sinensis* (DEY et al., 2018), *Chamomilla recutita* (ARRUDA et al., 2013), *N. humilis* (KHALKI et al., 2012) e *S. brasiliensis* (SANDINI et al., 2014).

Quadro 2. Efeitos toxicológicos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal da prole, resultado da administração de espécies vegetais durante a gestação e/ou lactação em roedores.

(continua)

Nome científico/Família	Parte da planta/Extrato	Dose	Resultado geral	Período de administração	Referência
<i>Ferula gummosa</i> (Apiaceae)	Raiz Pó	700 mg/Kg	Diminuição no peso dos filhotes	Gestação; lactação; e filhotes com idade entre 4 e 5 semanas	Vahedi et al., 2018
<i>Artemisia herba-alba</i> (Asteraceae)	Partes aéreas Extrato metanólico	80 e 150 mg/kg	Embriofetalidade e comprometimento dos parâmetros reflexos	Gestação	Laadraoui et al., 2018
<i>Chamomilla recutita</i> (Asteraceae)	Capítulos florais Extrato aquoso	0,5 mL - 5 e 10%	Diminuição no peso dos filhotes e retardo no desaparecimento dos reflexos neurológicos	1º ao 7º dia de gestação	Arruda et al., 2013
<i>Senecio brasiliensis</i> (Asteraceae)	Folhas Resíduo butanólico	9 mg/Kg	Toxicidade materna e atraso no desenvolvimento pós-natal da prole	Gestação (organogênese e período fetal - 6º ao 20º dia gestacional)	Sandini et al., 2014
<i>Catha edulis</i> (Celastraceae)	Folhas*	100, 200 e 300 mg/Kg	Toxicidade materna e retardo no desaparecimento dos reflexos neurológicos	Gestação (organogênese e período fetal - 6º ao 20º dia gestacional) e lactação	Bedada; Engidawork, 2010
<i>Rhodiola kirilowii</i> (Crassulaceae)	Raiz e Rizomas Extratos aquoso e hidroalcoólico	20 mg/Kg	Toxicidade neonatal com embriofetalidade	Gestação (21 dias) e Lactação (7dias)	Zdanowski et al., 2014; Lewicki et al., 2015, 2017

Quadro 2. Efeitos toxicológicos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal da prole, resultado da administração de espécies vegetais durante a gestação e/ou lactação em roedores.

(continua)

Nome científico/Família	Parte da planta/Extrato	Dose	Resultado geral	Período de administração	Referência
<i>Momordica Charantia</i> (Cucurbitaceae)	Fruto verde Extrato aquoso	2 mL	Efeito teratogênico	7º ao 14º de gestação (organogênese)	Uche-nwachi; Mcewen, 2010
<i>Astragalus membranaceus</i> (Fabaceae)	Astragalosídeo IV (Saponina)	0,25, 0,5 e 1,0 mg/Kg	Atraso no desenvolvimento pós-natal da prole	15º a 21º dia de gestação (fase fetal) e lactação (21 dias)	Xuying et al., 2010
<i>Trigonella foenum-graecum</i> (Fabaceae)	Sementes Extrato aquoso	500 e 1000 mg/Kg	Efeito teratogênico e embriofetalidade	Gestação	Khalki et al., 2010
<i>Origanum vulgare</i> (Lamiaceae)	Folhas Óleo essencial	27% (v/v)	Embriofetalidade	14 dias antes do acasalamento, 21 dias durante o período de acasalamento, 21 dias de gestação e 21 dias de lactação	Hollenbach et al., 2017
<i>Hibiscus sabdariffa</i> (Malvaceae)	Cálice (flor) Extrato aquoso	500 mg/kg	Toxicidade sobre o desenvolvimento sexual da prole	12º ao 21º dia de Gestação (final da organogênese e fase fetal) e lactação (21 dias)	Arruda et al., 2015
<i>Trichilia catigua</i> (Meliaceae)	Cascas Extratos acetônico e aquoso	400 mg/kg	Embriofetalidade	Gestação e lactação	Santos et al., 2015

Quadro 2. Efeitos toxicológicos sobre o desenvolvimento pré e pós-natal da prole, resultado da administração de espécies vegetais durante a gestação e/ou lactação em roedores.

(continuação)

Nome científico/Família	Parte da planta/Extrato	Dose	Resultado geral	Período de administração	Referência
<i>Passiflora incarnata</i> (Passifloraceae)	Partes aéreas*	300 mg/Kg	Toxicidade sobre o desenvolvimento sexual da prole	Gestação e lactação	Bacchi et al., 2013
<i>Eurycoma longifolia</i> (Simaroubaceae)	Raízes Extrato metanólico	25 e 100 mg/Kg	Diminuição no peso dos filhotes	Gestação e lactação	Low et al., 2014
<i>Simaba ferruginea</i> (Simaroubaceae)	Rizomas Extrato hidroetanólico	50 e 100 mg/Kg	Embriofetalidade	8° ao 16° dia de gestação (organogênese)	Vanzeler et al., 2015
<i>Nicotiana humilis</i> (Solanaceae)	Folhas Extrato metanólico	0,5 mg/ Kg	Atraso no desenvolvimento pós-natal da prole e efeito teratogênico	21 dias de gestação	Khalki et al., 2012
<i>Camellia sinensis</i> (Theaceae)	Folhas Extrato aquoso	50 e 100 mg/Kg	Toxicidade materna e retardo no desenvolvimento físico pós-natal da prole	Gestação e lactação	Dey et al., 2018
<i>Camellia sinensis</i> (Theaceae)	Folhas Extrato aquoso	700 e 2500 mg/Kg	Toxicidade materna e diminuição no peso dos filhotes	Antes e durante o acasalamento, na gestação e lactação (12 semanas)	Wang et al., 2013

* Não foi possível identificar o extrato utilizado.

4. METODOLOGIA

4.1. MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas da *Phyllanthus niruri* Linn foram coletadas em março de 2018 no município de Cuité-PB. Uma espécime foi identificada botanicamente e sua exsicata encontra-se depositada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – campus Cuité/Paraíba, sob código 0062.

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos, sob número de cadastro ADE2538 e, após procedimento administrativo de verificação, não foi objeto de requerimentos de verificação de indícios de irregularidades.

O material coletado foi submetido a secagem em estufa de ar circulante a 40 ° C por um período de 3 dias. Após a secagem, o material foi moído, em seguida, o extrato aquoso foi preparado por infusão durante 15 minutos, em água destilada com temperatura entre 80 e 90°C, utilizando a proporção de 3 g das partes aéreas moídas em 150 mL do solvente (COLPO et al., 2014; PUCCI et al., 2018). O extrato obtido foi filtrado e concentrado a pressão reduzida utilizando rota evaporador com temperatura não superior a 50 °C.

4.2. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Fêmeas primíparas (n = 24), da linhagem Wistar, adultas, pesando aproximadamente 250 ± 50 g, provenientes do Biotério da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e mantidas no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) da UFCG - campus Cuité/Paraíba foram utilizadas para obtenção de 36 ratos machos recém-nascidos. Os animais foram mantidos sob condições-padrão: temperatura de 22 ± 1°C, ciclo claro-escuro de doze horas controlado automaticamente (início da fase clara às 6:00 h), umidade de ± 65%, tendo livre acesso à água e a ração, durante todo o procedimento experimental.

O sistema de acasalamento foi do tipo monogâmico. Após a confirmação da prenhez, as ratas gestantes (n = 8 animais por grupo) foram separadas e alojadas em gaiolas-maternidade individuais, sendo então distribuídas aleatoriamente em três grupos: um controle, que recebeu água destilada por meio de gavagem; e dois grupos experimentais tratados oralmente (gavagem)

com o extrato aquoso de *P. niruri* (EAPN), nas doses de 75 e 150 mg/kg/dia, do início da organogênese (7º dia de gestação) até o final da lactação (21º dia de lactação).

Neste experimento, a dose adotada foi calculada considerando a dose recomendada para uso em adultos humanos para tratar a litíase renal (PUCCI et al., 2018) e com base nos resultados obtidos de estudos prévios, realizados com o extrato aquoso das partes aéreas de *P. niruri*, quanto aos testes de toxicidade oral aguda (estimativa da dose letal mediana - DL50) e subcrônica, nos quais foi demonstrando que o extrato exibiu uma DL50 superior a 5000 mg/kg, enquanto no estudo de doses repetidas, se mostrou seguro em doses inferiores a 250 mg/kg/dia (ABDULLA et al., 2010; ASARE et al., 2011; QUEIROZ et al., 2013).

As ninhadas foram padronizadas com seis filhotes, para garantir similaridade nutricional, e apenas os machos foram utilizados. Durante todo o período de lactação, os neonatos foram analisados quanto à ontogênese reflexa. Na idade adulta (80 a 90 dias pós-natal) foram submetidos aos testes de avaliação da memória (Figura 2).

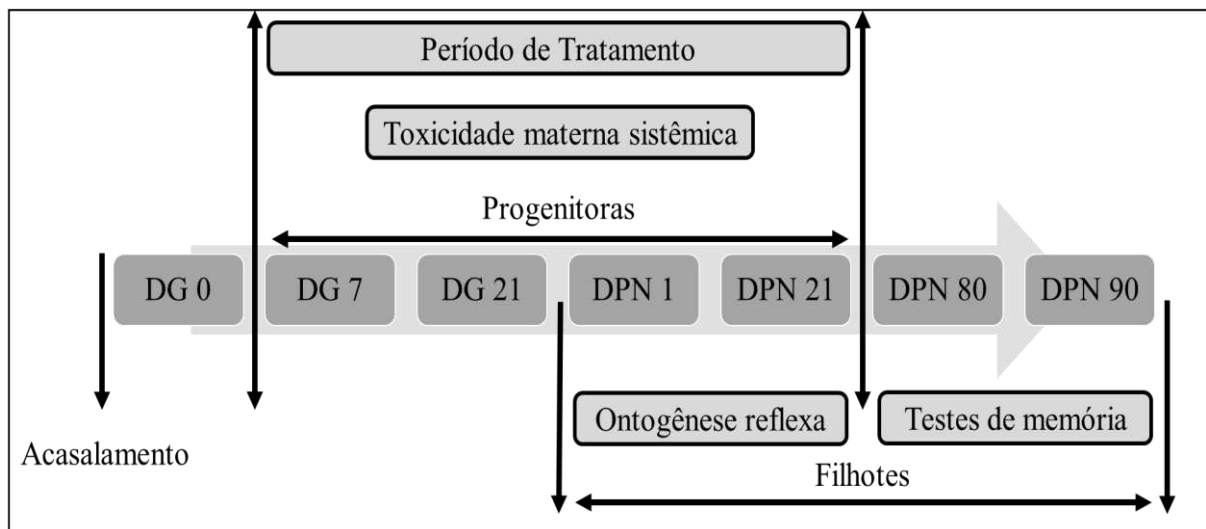


Figura 2. Protocolo experimental. DG: dia gestacional; DPN: dia pós-natal.

A pesquisa seguiu o protocolo experimental de acordo com as recomendações éticas do *National Institute of Health Bethesda* (Bethesda, USA), com relação aos cuidados com os animais. O presente trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais (CEUA) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), N° de Protocolo CEP/CEUA: 065/2018.

4.3. TOXICIDADE MATERNA SISTÊMICA

4.3.1. Consumo de ração e evolução ponderal

O peso corporal de cada progenitora foi registrado diariamente, desde o início da prenhez até completar os 21 dias de gestação, com a utilização de balança semi-analítica da marca Balmak[®]. A partir desses registros as progenitoras foram avaliadas semanalmente nos dias 7, 14 e 21 quanto ao ganho de peso corporal.

O consumo de ração foi mensurado a cada sete dias durante o período de gestação e lactação, sendo calculado pela diferença entre uma quantidade pré-estabelecida de ração (400g) ofertada semanalmente e as quantidades residuais de ração.

4.3.2. Performance reprodutiva

Para cada grupo os seguintes parâmetros foram avaliados: número de fêmeas acasaladas e fêmeas grávidas, duração da gestação, tamanho da ninhada, presença de natimortos, peso da ninhada e peso médio dos filhotes. Além disso, para avaliar os parâmetros de fertilidade e o desempenho reprodutivo, os seguintes índices foram calculados: índice de fertilidade feminina (número de fêmeas grávidas x 100 / número de fêmeas acasaladas), índice de gestação (número de fêmeas com descendentes vivos x 100 / número de fêmeas grávidas), índice de nascidos vivos (número de nascidos vivos x 100 / número de filhotes nascidos), índice de viabilidade no dia 4 (número de neonatos vivos no 4º dia pós-natal x 100 / número de neonatos vivos no dia pós-natal 0) e o índice de desmame (número de neonatos vivos no dia 21 pós-natal x 100 / número de recém-nascidos vivos no dia 4 pós-natal) (MÜLLER et al., 2009; KHALKI et al., 2010; WANG et al., 2013).

4.4. ONTOGÊNESE REFLEXA

As proles foram avaliadas diariamente, quanto a ontogênese reflexa, do 1º ao 21º dia pós-natal, sempre entre as 07:00 e 09:00 horas da manhã. Os seguintes reflexos foram avaliados: preensão palmar, recuperação postural do decúbito, colocação espacial desencadeada pelas vibrissas, aversão ao precipício, geotaxia negativa, resposta ao susto e recuperação do decúbito em queda livre. Para cada parâmetro o tempo máximo de observação foi de 10 segundos. A resposta foi considerada consolidada quando a reação reflexa esperada foi repetida por três dias

consecutivos, considerando o dia de consolidação como o 1º dia de aparecimento. A avaliação dos reflexos foi realizada conforme descrito por Smart e Dobbing (1971) (Quadro 3).

Quadro 3. Procedimentos para avaliação da ontogênese reflexa.

Reflexo	Resposta
Preensão palmar	O reflexo é registrado quando não ocorre a flexão da pata dianteira, após ser acariciada suavemente com um instrumento metálico.
Recuperação postural de decúbito	O animal se vira para a posição normal apoiado com as quatro patas sobre a superfície, após ter sido colocado em decúbito dorsal.
Colocação espacial desencadeada pelas vibrissas	Com as vibrissas tocando a borda de uma superfície plana, após ser suspenso pela cauda, o rato levanta a cabeça e estende as patas dianteiras sobre a superfície, realizando movimentos de marcha.
Aversão ao precipício	Com o focinho e as patas dianteiras colocadas na borda de uma superfície plana, o animal se afasta na direção oposta.
Geotaxia negativa	O animal gira 180º após ser colocado com a cabeça voltado para baixo em uma rampa com inclinação de 45º.
Resposta ao susto	Resposta de sobressalto, após estímulo sonoro intenso e agudo.
Recuperação do decúbito em queda livre	O animal gira o corpo no ar caindo apoiado pelas quatro patas, após ser segurado pelas quatro patas a uma altura de 30 cm e liberado em queda livre.

Fonte: Adaptado de Smart e Dobbing (1971).

4.5. TESTES COMPORTAMENTAIS

Para a avaliação comportamental da memória de aprendizado, os animais foram submetidos aos testes de habituação em campo aberto e de reconhecimento de objetos. Todas as sessões foram filmadas com uma câmera de vídeo instalada no teto para posterior análise. A cada troca de animal durante os testes, o aparelho foi higienizado com etanol a 10%, para garantir que o comportamento dos animais não fosse guiado por sinais de odor (ANTUNES; BAIALA, 2012).

4.5.1. Teste de Habituação ao Campo Aberto

O método foi realizado conforme descrito por Rachetti et al., (2013), com algumas adaptações. O aparato do campo aberto consiste em uma caixa de madeira de dimensão

quadrada (60 cm x 60 cm x 60 cm), com paredes e piso preto, este último dividido em 9 quadrantes. O procedimento experimental de avaliação da habituação em campo aberto consistiu na exposição dos animais a duas sessões: treinamento e teste. A segunda exposição (teste) ocorreu sete dias após o dia de treinamento. Durante cada sessão o animal foi colocado no centro do campo aberto, sendo permitido a exploração do aparelho por 10 minutos. Duas variáveis foram calculadas durante as duas exposições: o número de cruzamentos dos quadrantes percorridos pelo animal com as quatro patas e a distância total percorrida. A partir dessas variáveis foi possível comparar as atividades locomotora e exploratória dos animais.

No teste de habituação em campo aberto, a redução das atividades locomotora e exploratória, com a exposição repetida ao mesmo ambiente, são consideradas um índice de memória, mensurado através da familiarização do animal com o ambiente experimental (OLIVEIRA et al., 2010; RACHETTI et al., 2013).

4.5.2. Teste de Reconhecimento de Objetos

O teste de reconhecimento de objetos consistiu na exposição do animal ao campo aberto a uma sessão de habituação, familiarização e a duas fases de testes, todas com duração de 10 minutos cada, conforme descrito por Nava-Mesa et al. (2013).

A primeira exposição (habituação) compreendeu a familiarização do animal ao aparelho. Após 24 horas da sessão de habituação, cada animal foi novamente introduzido no aparelho, e lhe permitido explorar o ambiente na presença de dois objetos de texturas idênticas, mas de formas distintas (OF1 – prisma triangular liso e OF2 – prisma quadrangular liso), posicionados nas extremidades do campo aberto. Esta primeira exposição do animal aos objetos correspondeu a sessão de familiarização. No mesmo dia, 1 hora depois, ocorreu a primeira sessão de teste e a memória a curto prazo foi avaliada quando o animal foi novamente introduzido no aparelho, no qual continha o objeto familiar OF1 e um objeto novo (ON1 – idêntico a OF1, mas com textura diferente – prisma triangular áspero) a serem explorados livremente pelo animal. A segunda sessão de teste avaliou a memória a longo prazo, realizada 24 horas após o teste de memória a curto prazo. Neste teste, os animais foram novamente expostos ao campo aberto, desta vez contendo o objeto familiar OF2 e um objeto novo (ON2 – prisma quadrangular áspero), também de mesma forma, porém com textura diferente.

O posicionamento dos objetos familiares permaneceu sempre os mesmos, localizados próximos a dois cantos opostos do aparelho, enquanto os objetos novos foram sempre colocados em substituição a um dos objetos familiares, de acordo com o teste a ser realizado (Figura 3).

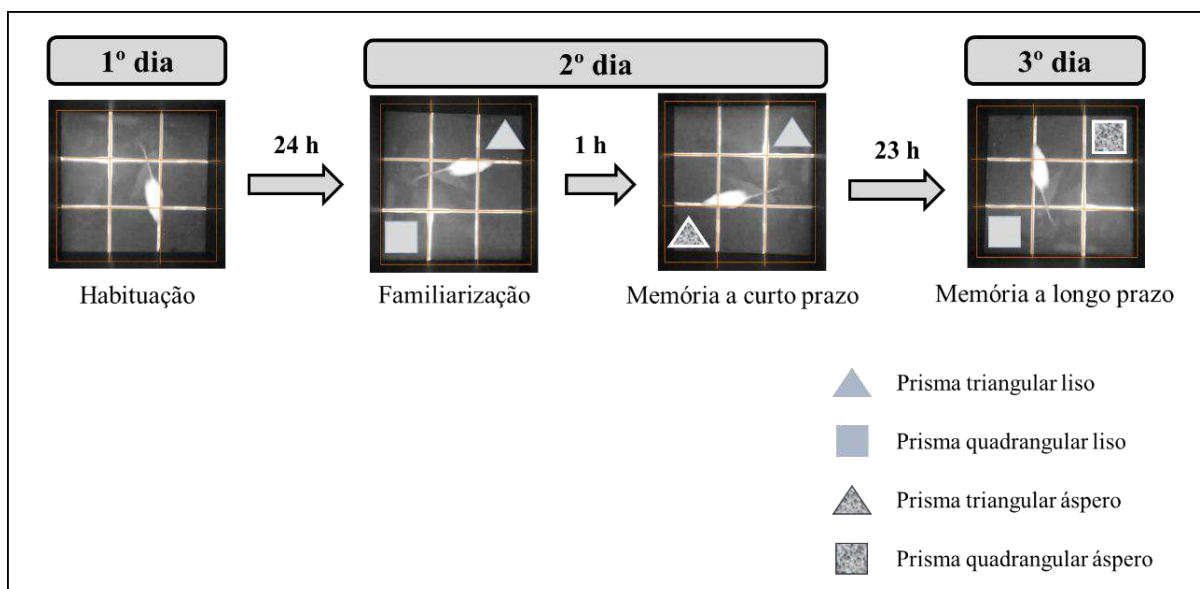


Figura 3. Linha temporal para o teste de reconhecimento de objetos.

Fonte: Adaptação de Nava-Mesa et al. (2013).

A exploração dos objetos foi definida como o comportamento do animal ao direcionar o focinho e farejar o objeto a uma distância inferior a 2 cm, tocar o objeto com o focinho e/ou com as patas dianteiras (RACHETTI et al., 2013; PAUL et al., 2019).

Os parâmetros avaliados, mensurados a partir do tempo gasto na exploração de cada objeto nas sessões de teste, incluem a comparação do tempo total gasto na exploração dos objetos novos (TON) com o tempo gasto na exploração dos objetos familiares (TOF); o índice de reconhecimento (IR), calculado usando a fórmula: $IR = TON / (TON + TOF)$, que corresponde ao tempo gasto explorando o objeto novo dividido pelo tempo total de exploração dos ON e OF; e o índice de discriminação (ID) que foi calculado como a diferença no tempo de exploração entre o objeto novo e o objeto familiar dividido pelo tempo total de exploração dos dois objetos [$ID = (TON - TOF) / (TON + TOF)$] (KIM et al., 2016; D'AVILA et al., 2017; LUEPTOW, 2017; NAZIR et al., 2018). Para o ID, o resultado pode variar entre +1 e -1, em que valores positivos indicam mais tempo gasto com o novo objeto, valores negativos ou próximos a zero indicam baixa capacidade de discriminação e, conseqüentemente, mais tempo gasto com o objeto familiar (LIN et al., 2017; NILLERT et al., 2017; PAUL et al., 2019).

4.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos para a avaliação da ontogênese reflexa foram expressos como mediana (mínimo e máximo) e analisados pela análise de variância de Kruskal-Wallis a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), seguida pelo teste de Dunn. Os dados foram apresentados como

média \pm desvio padrão (DP) para a performance reprodutiva, evolução ponderal e consumo de ração; e como média \pm erro padrão da média (EPM) para os testes comportamentais. ANOVA bidirecional seguida pelo teste de múltiplas comparações de Sidak foi usada para comparar os dados intragrupos, enquanto para comparar dados intergrupos foi utilizado ANOVA unidirecional seguido pelo teste de múltiplas comparações de Tukey. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos e de $p \leq 0,001$ como altamente significativo. Todos os dados foram analisados e plotados para representação gráfica pelo programa estatístico: *Software GraphPad Prism*.

5. RESULTADOS

5.1. CONSUMO DE RAÇÃO E EVOLUÇÃO PONDERAL MATERNA DE RATAS EXPOSTAS AO EXTRATO DE *P. niruri*

Não foi observado diferença estatística significativa entre os grupos controle e tratados com EAPN, nas doses de 75 e 150 mg/kg, quanto ao consumo de ração durante os períodos de gestação e lactação (Figura 4 A).

Com relação ao ganho de peso corporal das progenitoras, o tratamento com EAPN não interferiu no peso corporal, uma vez que ambos os grupos exibiram ganho de peso corpóreo de evolução estatisticamente semelhante durante toda gestação, conforme apresentado na Figura 4 B.

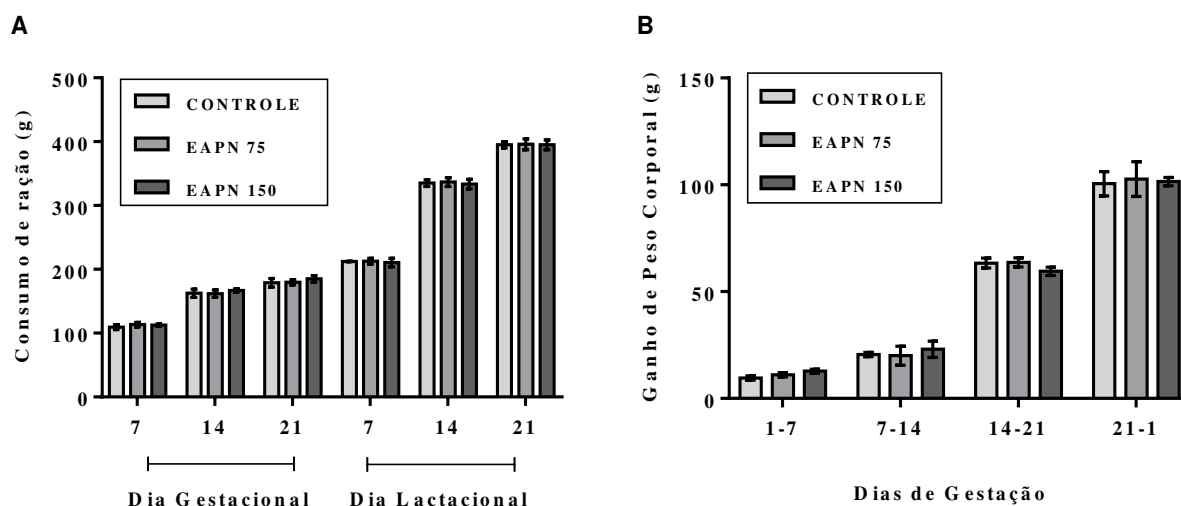


Figura 4. Efeito do tratamento por via oral com EAPN sobre o consumo materno de ração (A) e o ganho de peso corporal materno (B). Grupo controle (n = 8), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – n = 8), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – n = 8). Dados expressos como média \pm DP. One-Way ANOVA, seguida do teste de múltiplas comparações de Tukey (p < 0,05).

5.2. PERFORMANCE REPRODUTIVA MATERNA DE RATAS EXPOSTAS AO EXTRATO DE *P. niruri*

Na avaliação pré-natal dos parâmetros maternos (índice de fertilidade feminina, duração da gestação e índice de gestação) não houve diferença entre os grupos controle e tratados com EAPN. Quanto aos efeitos sobre a prole, o tamanho da ninhada, índice de nascidos vivos, peso da ninhada, peso médio dos filhotes, índice de viabilidade no 4º dia e índice de desmame dos

animais tratados com EAPN não diferiram em comparação ao grupo controle (Tabela 1). Além disso, não houve a presença de natimortos e o exame macroscópico não revelou nenhuma malformação grosseira ou indícios de desenvolvimento anormal em nenhum grupo.

Tabela 1. Desempenho reprodutivo de ratas tratadas diariamente com EAPN do 7º dia de gestação ao 21º dia de lactação.

Parâmetros	Controle	Extrato aquoso <i>P. niruri</i> (mg/kg/dia)	
		75	150
Ratas Acasaladas/Ratas Prenhes (n)	8/8	8/8	8/8
Índice de Fertilidade feminina (%)	100	100	100
Duração da gestação (dias)	21,00 ± 0,50	20,75 ± 0,96	20,75 ± 0,25
Índice de Gestação (%)	100	100	100
Tamanho da ninhada	11,00 ± 1,00	9,60 ± 0,89	9,75 ± 0,96
Natimortos (n)	0	0	0
Índice de nascidos vivos (%)	100	100	100
Peso da Ninhada (g)	68,00 ± 6,00	61,17 ± 9,43	61,25 ± 6,18
Peso médio dos filhotes (g)	6,30 ± 0,24	6,10 ± 0,24	6,31 ± 0,24
Índice de viabilidade no dia 4 (%)	100	100	100
Índice de desmame (%)	100	100	100

Dados expressos como média ± DP. One-Way ANOVA, seguida do teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.3. EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA À *P. niruri* SOBRE A ONTOGÊNESE REFLEXA NOS NEONATOS

A exposição materna ao EAPN nas doses de 75 e 150 mg/kg/dia promoveu antecipação estatisticamente significante em comparação com o grupo controle, dos seguintes reflexos: recuperação postural do decúbito ($p < 0,0001$), aversão ao precipício ($p < 0,0001$), geotaxia negativa ($p < 0,0001$) e resposta ao susto ($p < 0,01$) (Tabela 2). No entanto, nenhuma diferença foi observada quanto aos reflexos de desaparecimento de preensão palmar, colocação espacial desencadeada pelas vibrissas e recuperação do decúbito em queda livre.

Tabela 2. Ontogênese reflexa da prole de ratas expostas ao extrato de *P. niruri* durante o período gestacional e lactacional.

Reflexo	Controle (n = 12)	Extrato aquoso <i>P. niruri</i> (mg/kg/dia)	
		75 (n = 12)	150 (n = 12)
Desaparecimento da preensão palmar	9 (8-10)	9 (8-10)	9 (8-9)
Recuperação postural do decúbito	6 (5-7)	4 (4-5) ^{****}	4 (4-6) ^{****}
Colocação espacial desencadeada pelas vibrissas	9 (8-10)	10 (9-10)	9 (8-11)
Aversão ao precipício	11 (9-12)	8 (8-10) ^{****}	9 (8-10) ^{****}
Geotaxia negativa	20 (19-21)	13 (12-15) ^{****}	14 (12-15) ^{****}
Resposta ao susto	12.5 (11-14)	11 (11-13) ^{**}	12 (10-13) ^{**}
Recuperação do decúbito em queda livre	12 (11-14)	13 (12-13)	12 (11-13)

Dados expressos em valores de mediana (mínimo e máximo). Kruskal-Wallis seguida pelo teste de Dunn, foi utilizada para análise estatística. ^{**} p < 0,01, ^{****} p < 0,0001 comparado com o grupo controle.

5.4. EFEITOS DA EXPOSIÇÃO MATERNA AO EXTRATO SOBRE A MEMÓRIA DA PROLE NA IDADE ADULTA

5.4.1. Teste de Habituação ao Campo Aberto

De acordo com os dados obtidos na avaliação da atividade locomotora no teste de habituação em campo aberto, entre a primeira e a segunda exposição houve uma diminuição estatisticamente significativa na frequência de locomoção durante a segunda exposição para todos os grupos: controle (p < 0,001), EAPN 75 mg/kg (p < 0,001) e EAPN 150 mg/kg (p < 0,0001) (Figura 5).

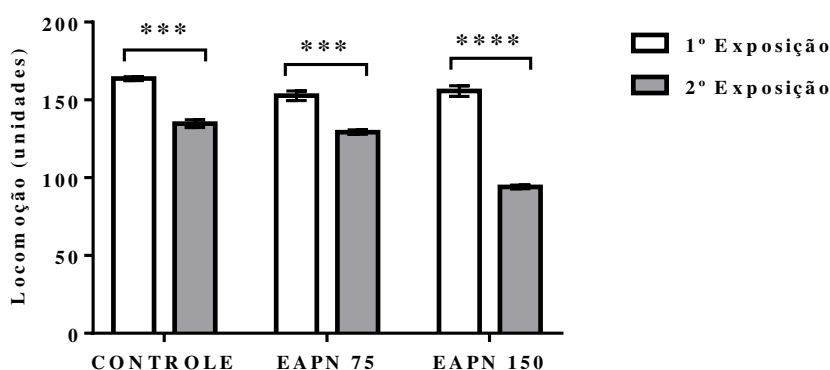


Figura 5. Frequência de locomoção no teste de habituação em campo aberto. Grupo controle (n = 12), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – n = 12), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – n = 12). Dados expressos como média \pm EPM. Two-Way ANOVA, seguida do teste de múltiplas comparações de Sidak. Asteriscos indicam o nível de significância estatística intragrupo na frequência de locomoção entre a primeira e segunda exposição em campo aberto: *** p < 0,001, **** p < 0,0001.

Adicionalmente, durante o teste de habituação foi mensurado a distância total percorrida como uma medida da atividade exploratória (Figura 6). Diferença significativa entre a primeira e a segunda exposição foi observada para os grupos tratados com EAPN 75 (p < 0,01) e EAPN 150 mg/kg (p < 0,0001), que exibiram uma diminuição na distância total percorrida, de forma dose-dependente, em resposta à atividade exploratória reduzida e, conseqüentemente, a uma maior familiarização ocorrida entre os animais destes grupos e a arena do campo aberto, durante a segunda exposição.

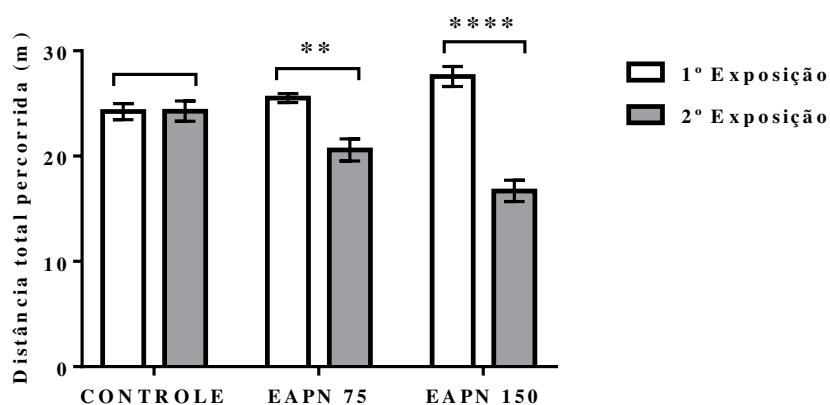


Figura 6. Distância total percorrida durante o teste de habituação em campo aberto. Grupo controle (n = 12), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – n = 12), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – n = 12). Dados expressos como média \pm EPM. Two-Way ANOVA, seguida do teste de múltiplas comparações de Sidak. Asteriscos indicam o nível de significância estatística intragrupo na distância total percorrida entre a primeira e segunda exposição em campo aberto: ** p < 0,01, **** p < 0,0001.

5.4.2. Teste de Reconhecimento de Objetos

Os resultados obtidos no teste de reconhecimento de objetos, quanto a memória a curto prazo e a longo prazo de ratos expostos ao EAPN nos períodos pré-natal e neonatal estão apresentados graficamente nas Figura 7, 8 e 9.

O tempo total usado na exploração do objeto novo aumentou significativamente em comparação ao tempo gasto no objeto familiar para ambos os grupos experimentais (EAPN 75 mg/kg e EAPN 150 mg/kg) ($p < 0,0001$), na análise da memória a curto prazo (Figura 7 A). Já em relação a memória a longo prazo (Figura 7 B), os grupos EAPN 75 mg/kg e EAPN 150 mg/kg exibiram um aumento significativo e dependente da dose no tempo gasto no objeto novo, em relação ao objeto familiar ($p < 0,01$ e $p < 0,0001$, respectivamente).

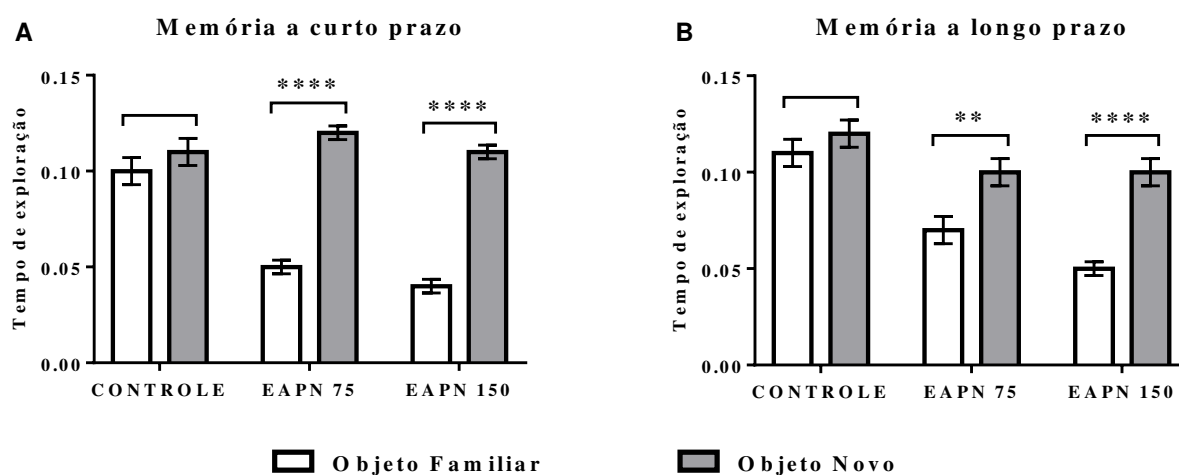


Figura 7. Comparação do tempo de exploração dos objetos familiar e novo no teste de reconhecimento de objetos. (A) Teste de memória a curto prazo. (B) Teste de memória a longo prazo. Grupo controle ($n = 12$), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – $n = 12$), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – $n = 12$). Dados expressos como média \pm EPM. Two-Way ANOVA, seguida do teste de múltiplas comparações de Sidak. Asteriscos indicam o nível de significância estatística intragrupo no tempo de exploração do objeto familiar e objeto novo: ** $p < 0,01$, **** $p < 0,0001$.

Os dados do IR revelaram um efeito significativo do EAPN no teste de reconhecimento de objetos em ambos os períodos de avaliação, em que ANOVA, seguida do pós teste, revelou que os grupos EAPN 75 mg/kg e EAPN 150 mg/kg exibiram um IR para o objeto novo significativamente maior, em relação ao grupo controle, no teste de memória a curto prazo ($p < 0,05$, $p < 0,01$, respectivamente) e a longo prazo ($p < 0,001$, $p < 0,0001$, respectivamente) (Figura 8 A e B).

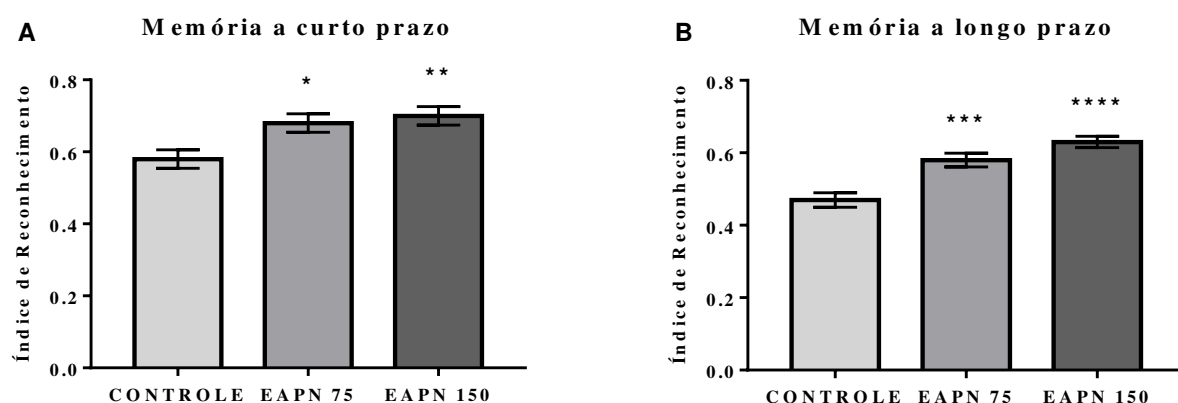


Figura 8. Preferência de exploração para o objeto novo durante o teste de memória a curto prazo (A) e de memória a longo prazo (B). Grupo controle (n = 12), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – n = 12), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – n = 12). Dados expressos como média \pm EPM. One-Way ANOVA, seguida do teste de Tukey. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ comparado com o grupo controle.

Na avaliação da memória a curto prazo (Figura 9 A), o ID foi significativamente maior nos grupos EAPN 75 mg/kg e EAPN 150 mg/kg, indicando que os animais foram capazes de discriminar significativamente o objeto novo do objeto familiar, quando comparado ao grupo controle ($p < 0,001$, $p < 0,0001$, respectivamente). De forma semelhante, em comparação com o grupo controle, os grupos tratados com o EAPN 75 mg/kg ($p < 0,001$) e EAPN 150 mg/kg ($p < 0,0001$) exibiram ID positivo e altamente significativo na avaliação da memória a longo prazo (Figura 9 B). Em ambos os períodos de avaliação da memória (a curto e longo prazo) foram observados um efeito dose-dependente.

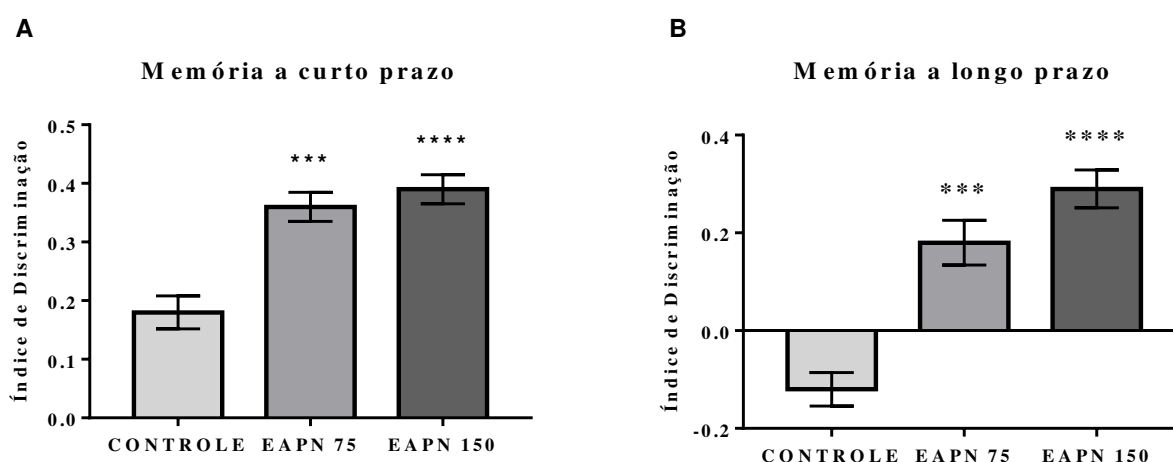


Figura 9. Índice de discriminação calculado para o teste de memória a curto prazo (A) e memória a longo prazo (B). Grupo controle (n = 12), Grupo EAPN 75 (*P. niruri* 75 mg/kg – n = 12), Grupo EAPN 150 (*P. niruri* 150 mg/kg – n = 12). Dados expressos como média \pm EPM. One-Way ANOVA, seguida do teste de Tukey. *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$ comparado com o grupo controle.

6. DISCUSSÃO

Estudos avaliando os efeitos de plantas medicinais no período de gestação e lactação são bastante limitados, especialmente quando avaliado os efeitos do tratamento por via oral sobre o neurodesenvolvimento da prole de ratas nesta fase inicial da vida. As partes aéreas da *P. niruri* são amplamente estudadas quanto às atividades hepatoprotetora (BHATTACHARYYA et al., 2017; SHANMUGAM et al., 2017), anti-inflamatória (MELO et al., 2015; MOSTOFA et al., 2017), anticancerígena (ARAÚJO JUNIOR et al., 2013; TANG et al., 2015) e antiurolítica (RODGERS et al., 2014; PATIL et al., 2017) através de modelos *in vivo* e *in vitro*, entretanto não possuem estudos que demonstrem os efeitos da exposição materna ao EAPN sobre a prole de ratos, sendo encontrados apenas pesquisas com a *Phyllanthus amarus*, espécie pertencente à mesma família e gênero da *P. niruri*.

Dessa forma, este estudo investigou, pela primeira vez, os efeitos da administração do extrato aquoso das partes aéreas de *P. niruri* sobre a maturação reflexa e o desenvolvimento da memória da prole. Os resultados indicaram que a administração do extrato influenciou positivamente acelerando os parâmetros reflexos dos neonatos e melhorou os parâmetros de avaliação da memória a curto e a longo prazo na vida adulta da prole, com ausência de toxicidade materna sistêmica e sem exibir qualquer consequência sobre o desempenho reprodutivo das progenitoras, estando livre de qualquer efeito teratogênico e até mesmo tóxico para a prole.

A exposição materna à extratos de plantas medicinais resulta em diferentes consequências para as progenitoras e para a prole em desenvolvimento, que podem ser observadas através de toxicidade materna sistêmica e alterações no desempenho reprodutivo, produzidas por agentes químicos presentes nos extratos. A toxicidade materna sistêmica pode ser manifestada através de alterações no desenvolvimento ponderal e na redução do consumo de ração, principais indicadores não invasivos de toxicidade materna, que avaliam de modo indireto o grau de comprometimento materno e fetal (CUNHA et al., 2009; HERRERO-MERCADO et al., 2011; TCHOUMTCHOUA et al. 2014). Portanto, o inadequado ganho de peso pode promover restrição de crescimento intrauterino ou refletir no tamanho da ninhada (LYRA et al., 2005; BACCHI et al., 2013; SANTOS et al., 2016), enquanto a nutrição materna inapropriado pode trazer consequências associadas com o aumento da mortalidade da prole, bem como retardo de crescimento e desenvolvimento físico (ZHANG et al., 2010). Sendo bem descrito na literatura, a relação da utilização de plantas medicinais de uso popular em ratas grávidas com a ocorrência de toxicidade materna, evidenciada, entre outros parâmetros, por

alterações no ganho de peso e no consumo de ração (DENT et al., 2012; WANG et al., 2013; CARDOSO et al., 2017; ELMAZOUY; ATTIA, 2018). Neste estudo, alterações maternas significativas no ganho de peso e no consumo de ração não foram observadas, indicando que houve ausência de efeitos tóxicos agudos, sugerindo baixa toxicidade materna sistêmica, com o tratamento com *P. niruri*, que poderiam provocar diminuição nestes parâmetros nos animais tratados.

Vários estudos com diferentes espécies vegetais quando administrados na gestação e lactação têm relatado redução nos índices de fertilidade, gestação, nascidos vivos e desmame, bem como no número de filhotes por ninhada e no peso corporal ao nascimento, além de exibir efeito tóxico correlacionado com a incidência de malformações externas (MÜLLER et al., 2009; UCHE-NWACHI; MCEWEN, 2010; KHALKI et al., 2012; ZDANOWSKI et al., 2014; HOLLENBACH et al., 2017; LAADRAOUI et al., 2018).

Muralidhar et al. (1993) ao avaliar os efeitos da exposição durante a gestação e lactação de uma formulação ayurvédica contendo *P. amarus* não observou efeitos adversos em parâmetros relacionados com a gravidez e o desenvolvimento da prole nos períodos peri e pós-natal. Em estudo realizado por Iranloye et al. (2010), com o extrato aquoso das folhas de *P. amarus* administrados em ratas durante a segunda semana da gestação, foi observado que o extrato na dose de 2000 mg/kg provocou abortos nas ratas tratadas. No entanto, nenhum estudo foi realizado até o momento para demonstrar qualquer efeito da *P. niruri* na gestação e no desenvolvimento peri e pós-natal da prole. Nossos resultados demonstraram que a administração de doses de 75 e 150 mg/kg/dia do EAPN durante a gestação e lactação não alterou nenhum dos parâmetros avaliados quanto ao desempenho reprodutivo materno.

Os parâmetros reflexos avaliados neste estudo foram utilizados em vários trabalhos anteriores para avaliar a maturação e a função do sistema nervoso central no início da vida, em roedores, após exposição materna a extratos vegetais e agentes químicos diversos (LI et al., 2014; ZHOU et al., 2016; ECKER et al., 2017). Ao contrário de estudos experimentais que relataram o comprometimento dos parâmetros reflexos, após a exposição materna a *Artemisia herba-alba* (LAADRAOUI et al., 2018), *Astragalus membranaceus* (XUYING et al., 2010), *Catha edulis* (BEDADA; ENGIDAWORK, 2010), *Elettaria cardamomum* (ABU-TAWEEL, 2018), *Nicotiana humilis* (KHALKI et al., 2012) e *Senecio brasiliensis* (SANDINI et al., 2014), sugerindo efeito tóxico no desenvolvimento neurocomportamental, nossos resultados mostraram que a exposição materna ao EAPN em duas concentrações, 75 e 150 mg/kg, acelerou o tempo de aparecimento dos reflexos de recuperação postural de decúbito, aversão ao

precipício, geotaxia negativa e resposta ao susto, mas sem alterações significativas nos demais reflexos analisados.

A antecipação da aversão ao precipício e da geotaxia negativa, refletem a maturação da função sensorial e motora (YOSHIDA et al., 2000), enquanto a recuperação postural do decúbito e a resposta ao susto envolvem, respectivamente, a função motora (XI et al., 2009) e o sistema vestibulo-espinhal (YEOMANS et al., 2002). Os resultados mostraram que os reflexos neuromotores da prole foram afetados positivamente quando expostos a *P. niruri*, sugerindo antecipação no amadurecimento do sistema nervoso. Resultados semelhantes ao presente estudo foram obtidos com a *Acacia Senegal* (BINJUMAH et al., 2018) e *Camelia sinensis* (AJAREM et al., 2017), quando administradas durante toda a gestação e lactação; *Cecropia glazioui*, quando administrada apenas durante a gestação (GERENUTTI et al., 2008); e *Podophyllum hexandrum* quando o tratamento ocorreu durante a fase fetal (17° ao 21° dia de gestação) (GOEL et al., 2002).

Tradicionalmente as plantas medicinais têm sido investigadas quanto a capacidade terapêutica para tratar distúrbios cognitivos, como distúrbios da memória, através da identificação de plantas e/ou seus constituintes ativos capazes de melhorar a memória (FOYET et al., 2015; RASHED et al., 2015). Os resultados do presente estudo demonstram, pela primeira vez, que a prole de mães tratadas oralmente durante a gestação e lactação com EAPN mostraram um bom desempenho quanto ao aprendizado e a memória de curto e longo prazo em comparação com os animais controle, nos testes de habituação em campo aberto e reconhecimento de objetos.

Muito útil para avaliar o desempenho cognitivo, o teste de habituação em campo aberto foi usado para aferir as atividades locomotora e exploratória da prole na fase adulta, através da frequência de locomoção e da distância total percorrida, respectivamente, após exposição repetida (7 dias) ao mesmo ambiente experimental. A extensão da redução da frequência de locomoção pelo animal, entre a primeira e a segunda exposição, é um meio de avaliar a familiarização, reconhecida como uma forma de aprendizado não associativo (RACHETTI et al., 2013). Neste estudo, observamos uma menor frequência de locomoção, após a segunda exposição ao campo aberto. Esse comportamento indica que a exposição materna ao EAPN (75 e 150 mg/kg) tem um impacto significativo na preservação da memória de aprendizagem da prole. Resultado semelhante foi observado por Bacchi et al. (2013), ao avaliarem o efeito da exposição materna ao extrato de *Passiflora incarnata* sobre a memória da prole, e por Melo et al. (2019), com a polpa e o óleo de *Persea americana*. Além disso, durante o teste de habituação, observou-se um efeito dependente da dose na diminuição da distância total percorrida,

confirmando a familiarização dos animais com o ambiente experimental (OLIVEIRA et al., 2010).

Modelo animal amplamente utilizado para avaliar a memória de curto e longo prazo, o teste de reconhecimento de objetos se baseia na preferência inata dos roedores em relação à novidade, ou seja, em explorar por mais tempo o objeto novo em detrimento ao familiar, em resposta a memória de reconhecimento (ENNACEUR, 2010; ANTUNES; BAIALA, 2012). O desempenho da memória de reconhecimento de objetos foi então avaliado com base nos índices de reconhecimento e discriminação, mensurados a partir do tempo de exploração dos objetos novos e familiares. No presente estudo, a administração do EAPN em doses de 75 e 150 mg/kg promoveu uma melhora significativa e dependente da dose na memória de reconhecimento na prole, evidenciada tanto por um maior IR quanto ID, na memória a curto e a longo prazo.

Uma vez que na avaliação da memória a longo prazo o intervalo entre as fases de familiarização e do teste é maior (24 horas) que na avaliação da memória de curto prazo (1 hora), os ratos podem não diferenciar os objetos novos e familiares (NILLERT et al., 2017), assim como observado para os animais controle, ao apresentarem IR abaixo de 50% e ID com valor negativo na avaliação da memória a longo prazo, fato este, não observado nos animais tratados com EAPN, o que demonstra a forte correlação entre a *P. niruri* e a memória de reconhecimento.

Tomados em conjunto, esses resultados sugerem melhora no desempenho cognitivo induzida pela exposição intrauterina e neonatal ao extrato de *P. niruri*. Esses achados estão de acordo com alguns estudos prévios que demonstraram melhorias na memória e aprendizagem, ao avaliaram os efeitos da exposição materna ao extrato de *Zataria multiflora*, durante a gestação (TAHERI et al., 2019); *Silybum marianum*, no período de gestação e lactação (YAGHMAEI et al., 2009); e *Boswellia serrata*, que ao ser administrada durante a lactação melhorou a memória da prole através do aumento do volume de neurônios, liberação de neurotransmissores e número de contatos sinápticos no hipocampo (SHARIFABAD; ESFANDIARY, 2012).

O mecanismo pelo qual a *P. niruri* produz efeitos benéficos sobre a memória da prole ainda não foi determinado com precisão, bem como os principais constituintes responsáveis por mediar esses efeitos. No entanto, tem sido demonstrado que o efeito farmacológico das plantas medicinais sobre a melhoria da memória e da função cognitiva é mediado por inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) (MUKHERJEE et al., 2007; FEITOSA et al., 2011; JIVAD; RABIEI, 2014; MATHEW; SUBRAMANIAN, 2014). Sharma et al. (2014) mostraram que animais tratados com extrato de *Acacia auriculiformis* exibiram uma melhora dependente da

dose na memória em comparação com o grupo controle. Semelhantemente, o extrato de *Ferula asafoetida* também produziu melhora significativa da memória (VIJAYALAKSHMI et al., 2012). Em ambos os estudos, os grupos tratados com estes extratos também demonstraram inibição da AChE, dependente da dose, na qual o efeito benéfico sobre a melhoria da memória foi atribuído à inibição desta enzima promovida por estes extratos. A AChE tem como principal função catalisar a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh) na colina na fenda sináptica, que é uma reação necessária para permitir o término da transmissão do impulso nervoso nas sinapses colinérgicas (MIAO et al., 2010). A inibição da AChE reduz a taxa de hidrólise da ACh, levando ao aumento do nível e da duração da ação do neurotransmissor, sendo um importante alvo farmacológico para moléculas bioativas (LARNER, 2010; TSIAOISSIS et al., 2018).

Verificou-se que espécies do gênero *Phyllanthus*, como *P. emblica* (MALVE et al. al., 2014) *P. reticulatus* (UDDIN et al., 2016) e *P. amarus* (ALAGAN et al., 2019) demonstraram bom desempenho da memória, que pode ser explicado pela atividade anticolinesterásica desse gênero. Possivelmente, a melhora no processo de retenção da memória observada no presente estudo, com a *P. niruri*, é devido a capacidade de certos fitoconstituintes (alcalóides, fenóis, flavonoides e taninos) em inibir a AChE, resultando no acúmulo de ACh na fenda sináptica, intensificando desta forma a transmissão colinérgica nas regiões do cérebro envolvidos na formação da memória (JUNG et al., 2009; ČOLOVIĆ et al., 2013; KHAN et al., 2018; TÜRKAN et al., 2019).

Um estudo prévio demonstrou que a isocorilagina, um tanino extraído das folhas de *P. niruri*, possui potente propriedade inibitória contra a AChE (KOAY et al., 2014). Portanto, é possível que os efeitos benéficos do EAPN na memória sejam atribuídos à facilitação da transmissão colinérgica devido à inibição da AChE no cérebro dos animais (SHARMA et al., 2014), promovida por este composto. Além disso, flavonoides (SOUCY et al., 2006; VANHEES et al., 2011) e alcalóides (JAMKHANDI et al., 2014) presentes na *P. niruri*, capazes de atravessar a barreira placentária, atingindo o feto em desenvolvimento, ou até mesmo transferidos junto ao leite materno (DOERGE et al., 2006), podem se acumular no cérebro dos ratos e melhorar a transmissão de sinais nas sinapses nervosas (KHAN et al., 2018). Estes fatos podem explicar a melhora no desempenho cognitivo observado na presente pesquisa, observado pela diminuição da distância total percorrida e da locomoção, após a segunda exposição ao campo aberto, e pelo aumento no tempo gasto explorando o objeto novo, em comparação ao grupo controle.

Sabe-se que o estrogênio desempenha importante papel na plasticidade sináptica do hipocampo exibindo efeitos positivos na consolidação da memória e na aprendizagem (YAGHMAEI et al., 2009; INAGAKI et al., 2010). Day e Good (2005) demonstram que a privação de estrogênio interrompe os processos de plasticidade sináptica no hipocampo e que essa interrupção é melhorada pela reposição crônica de estrogênio. De modo semelhante, Rodgers et al. (2010) demonstraram que a privação ao estrogênio comprometeu a consolidação da memória que foi melhorada pela administração crônica de estrogênio. Tem sido evidenciado que o extrato aquoso das folhas de *P. niruri* exibe efeito estrogênico (ASARE et al., 2013), possivelmente, devido a presença de fitoestrogênios, ou seja, fitoconstituintes não esteróides com efeitos estrogênicos, capazes de interagir com os receptores de estrogênio (NANASHIMA et al., 2018), como a filantina e a hipofilantina (ISLAM et al., 2008), encontradas nas partes aéreas da *P. niruri* (MEDIANI et al., 2016). Através da ligação a receptores de estrogênio, os fitoestrogênios podem exibir efeitos neuroprotetores, desempenhando papel crucial no desenvolvimento cerebral, na plasticidade neural e no aprendizado e memória (ZHAO et al., 2013; SONI et al., 2014). Portanto, trata-se de outra hipótese relacionada a melhoria da memória da prole na fase adulta, observada no presente estudo, na qual pode estar relacionado aos efeitos estrogênicos desta espécie.

Estudos têm mostrado que o aprimoramento no aprendizado e na memória da prole, expostas a extratos de *Camellia sinensis*, tem sido atribuído aos constituintes antioxidantes polifenólicos (AJAREM et al., 2017; SOUCHET et al., 2019). Portanto, os efeitos positivos da administração do EAPN, durante a gestação e lactação, na memória da prole também podem ser explicados pelo potencial antioxidante desta espécie, que já foi comprovado experimentalmente para a *P. niruri* e seus fitoconstituintes, em diferentes modelos *in vivo* (THIPPESWAMY et al., 2011; BHATTACHARYYA et al., 2014, 2017; GIRIBABU et al., 2014). Ao avaliar os efeitos da administração do extrato metanólico de *P. niruri* sobre o desempenho cognitivo de animais adultos com déficits cognitivos, Ambali et al. (2012) demonstraram uma correlação positiva entre a melhoria da memória de curto prazo com as propriedades antilipoperoxidativa dos flavonoides presentes no extrato. Além dos flavonoides, a atividade antioxidante desta espécie pode ser atribuída ao seu rico conteúdo de ácidos fenólicos (RANILLA et al., 2012), taninos (BEIDOKHTI et al., 2017), lignanas (MEDIANI et al., 2017) e terpenos (KUMAR et al., 2017), que também possuem características antioxidantes. Nas partes aéreas desta espécie, podem ser encontrados compostos fenólicos como os ácidos salicílico, gálico, vanílico, caféico, ferulíco, ácido p-cumárico, ácido 4-hidroxibenzóico, ácido

protocatecuico, (+)-catequina e (-)-epicatequina, todos com atividade antioxidante (NAVARRO et al., 2017).

Por fim, o presente estudo mostrou que a exposição intrauterina e neonatal ao extrato aquoso de *P. niruri* (75 e 150 mg/kg) melhorou o aprendizado e a memória da prole na fase adulta, de maneira dose-dependente, que foi demonstrado através dos testes de habituação em campo aberto e de reconhecimento de objetos. Possivelmente, estes efeitos estão relacionados a atividade anticolinesterásica, antioxidante e estrogênica da *P. niruri*.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo fornece, pela primeira vez, evidências de que extrato aquoso de *P. niruri* quando administrado nos períodos de gestação e lactação em doses de 75 e 150 mg/kg/dia a ratas Wistar não interferiu no consumo de ração, na evolução ponderal e nos parâmetros reprodutivos de ratas tratadas durante os períodos analisados, sugerindo ausência de efeito tóxico materno sistêmico e neonatal, nas condições avaliadas. No entanto, o extrato acelera o padrão de maturação reflexa dos neonatos e induz melhora dependente da dose no aprendizado e na memória a curto e a longo prazo da prole quando atingem a idade adulta. A melhora da memória e do aprendizado da prole na fase adulta pode estar relacionada as atividades anticolinesterásica, antioxidante e estrogênica da *P. niruri*. Portanto, investigações adicionais são necessárias para avaliar essa hipótese.

REFERÊNCIAS

- ABDULLA, M. A.; AHMED, K. A.; AL-BAYATY, F. H.; MASOOD, Y. Gastroprotective effect of *Phyllanthus niruri* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 4, n. 5, p. 226-230, 2010.
- ABU-TAWEEL, G. M. Cardamom (*Elettaria cardamomum*) perinatal exposure effects on the development, behavior and biochemical parameters in mice offspring. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 1, p. 186-193, 2018. doi: 10.1016/j.sjbs.2017.08.012
- AJAREM, J.; RASHEDI, G. A.; MOHANY, M.; ALLAM, A. Neurobehavioral changes in mice offspring exposed to green tea during fetal and early postnatal development. **Behavioral and Brain Functions**, v. 13, n. 10, p. 1-14, 2017. doi:10.1186/s12993-017-0128-1.
- ALAGAN, A.; JANTAN, I.; KUMOLOSASI, E.; OGAWA, S.; ABDULLAH, M. A.; AZMI, N. Protective effects of *Phyllanthus amarus* against lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and cognitive impairment in rats. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, n. 632, p. 1-12, 2019. doi: 10.3389/fphar.2019.00632.
- AL ZARZOUR, R. H.; AHMAD, M.; ASMAWI, M. Z.; KAUR, G.; SAEED, M. A. A.; AL-MANSOUB, M. A.; SAGHIR, S. A. M.; USMAN, N. S.; AL-DULAIMI, D. W.; YAM, M. F. *Phyllanthus niruri* Standardized Extract Alleviates the Progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Decreases Atherosclerotic Risk in Sprague-Dawley Rats. **Nutrients**, v. 9, n. 766, p. 1-19, 2017. doi: 10.3390/nu9070766.
- AL ZARZOUR R. H.; ALSHAWSH, M. A.; ASIF, M.; AL-MANSOUB, M. A.; MOHAMED, Z.; AHMAD, M.; MAJID, A. M. S. A.; ASMAWI, M. Z.; KAUR, G.; AL-DUALIMI, D. W.; YAM, M. F. Adipocytokine Regulation and Antiangiogenic Activity Underlie the Molecular Mechanisms of Therapeutic Effects of *Phyllanthus niruri* against Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **Nutrients**, v. 10, n. 8, p. 1-21, 2018. doi: 10.3390/nu10081057.
- AMBALI, S. F.; MAKINDE, A. O.; SHITTU, M.; ADENIYI, S. A.; MOWUOGWU, F. O. Alleviating effect of *Phyllanthus niruri* on sensorimotor and cognitive changes induced by subacute chlorpyrifos exposure in Wistar rats. **American Journal of Medicine and Medical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 50-58, 2012. doi: 10.5923/j.ajmms.20120203.05.
- AMIN, Z. A.; BILGEN, M.; ALSHAWSH, M. A.; ALI, H. M.; HADI, A. H. A.; ABDULLA, M. A. Protective role of *Phyllanthus niruri* extract against Thioacetamide-induced liver cirrhosis in rat model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-9, 2012. doi:10.1155/2012/241583.
- ANTUNES, M.; BIALA, G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. **Cognitive Processing**, v. 13, n. 2, p. 93-110, 2012. doi: 10.1007/s10339-011-0430-z.
- ARAÚJO JUNIOR, R. F.; SOUZA, T. P.; PIRES, J. G. L.; SOARES, L. A. L.; ARAÚJO, A. A.; PETROVICK, P. R.; MACEDO, H. D. O.; OLIVEIRA, A. L. C. S. L.; GUERRA, G. C. B. A dry extract of *Phyllanthus niruri* protects normal cells and induces apoptosis in human

liver carcinoma cells. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, p. 1281–1288, 2012. doi: 10.1258/ebm.2012.012130.

ARCANJO, G. M. G.; MEDEIROS, M. L. F. S.; AZEVEDO, R. R. S.; GRIZ, S. A. S.; ROCHA, T. J. M.; MOUSINHO, K. C. Estudo da utilização de plantas medicinais com finalidade abortiva. **Revista Eletrônica de Biologia**, v. 6, n. 3, p. 234-250, 2013.

ARRUDA, A.; CARDOSO, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; ARENA, A. C. Safety assessment of *Hibiscus sabdariffa* after maternal exposure on male reproductive parameters in rats. **Drug Chemical Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 22-27, 2015. doi: 10.3109/01480545.2014.1003938.

ARRUDA, J. T.; APPROBATO, F. C.; MAIA, M. C. S.; SILVA, T. M.; APPROBATO, M. S. Efeito do extrato aquoso de camomila (*Chamomilla recutita* L.) na prenhez de ratas e no desenvolvimento dos filhotes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 1, p. 66-71, 2013. doi: 10.1590/S1516-05722013000100009.

AUROUX, M. Behavioral teratogenesis: an extension to the teratogenesis of functions. **Biology of the Neonate**. v. 71, n. 3, p. 137-147, 1997. doi: 10.1159/000244409.

ASARE, G. A.; ADDO, P.; BUGYEI, K.; GYAN, B.; ADJEI, S.; OTU-NYARKO, L. S.; WIREDU, E. K.; NYARKO, A. Acute toxicity studies of aqueous leaf extract of *Phyllanthus niruri*. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 4, n. 4, p. 206–210, 2011. doi: 10.2478/v10102-011-0031-9.

ASARE, G. A.; BUGYEI, K.; FIAWOYI, I.; ASIEDU-GYEKYE, I. J.; GYAN, B.; ADJEI, S.; ADDO, P.; OTU-NYARKO, L.; NYARKO, A. Male rat hormone imbalance, testicular changes and toxicity associated with aqueous leaf extract of an antimalarial plant: *Phyllanthus niruri*. **Pharmaceutical Biology**, v. 51, n. 6, p. 691–699, 2013. doi: 10.3109/13880209.2013.764325.

ASARE, G. A.; BUGYEI, K.; SITTIE, A.; YAHAYA, E. S.; GYAN, B.; ADJEI, S.; ADDO, P.; WIREDU, E. K.; ADJEI, D. N.; NYARKO, A. K. Genotoxicity, cytotoxicity and toxicological evaluation of whole plant extracts of the medicinal plant *Phyllanthus niruri* (Phyllanthaceae). **Genetics & Molecular Research**, v. 11, n. 1, p. 100–111, 2012. doi: 10.4238/2012.January.13.3.

BACCHI, A. D.; PONTE, B.; VIEIRA, M. L.; DE PAULA, J. C.; MESQUITA, S. F.; GERARDIN, D. C.; MOREIRA, E. G. Developmental exposure to *Passiflora incarnata* induces behavioural alterations in the male progeny. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 25, n. 5, p. 782-789, 2013. doi: 10.1071/RD11307.

BEDADA, W.; ENGIDAWORK, E. The neuropsychopharmacological effects of *Catha edulis* in mice offspring born to mothers exposed during pregnancy and lactation. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 2, p. 268-276, 2010. doi: 10.1002/ptr.2925.

BEIDOKHTI, M. N.; ANDERSEN, M. V.; EID, H. M.; VILLAVICENCIO, M. L. S.; STAERK, D.; HADDAD, P. S.; JÄGER, A. K. Investigation of antidiabetic potential of *Phyllanthus niruri* L. using assays for α -glucosidase, muscle glucose transport, liver glucose production, and adipogenesis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 493, n. 1, p. 869-874, 2017. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.09.080.

- BHATTACHARYYA, S.; BANERJEE, S.; GUHA, C.; GHOSH, S.; SIL, P. C. A 35 kDa *Phyllanthus niruri* protein suppresses indomethacin mediated hepatic impairments: Its role in Hsp70, HO-1, JNKs and Ca²⁺ dependent inflammatory pathways. **Food and Chemical Toxicology**, v. 102, p. 76-92, 2017. doi: 10.1016/j.fct.2017.01.028.
- BHATTACHARYYA, S.; GHOSH, S.; SIL, P. C. Amelioration of aspirin induced oxidative impairment and apoptotic cell death by a novel antioxidant protein molecule isolated from the herb *Phyllanthus niruri*. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. 1-16, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0089026.
- BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; POSSENTI, A. FOGLIO, M. A.; SIQUEIRA, M. G.; CARVALHO, J. E. Efeitos da administração aguda e subcrônica da *Luehea divaricata* Martus et Zuccarini. **Lecta**, v. 22, n. 1/2: p. 53-58, 2004.
- BINJUMAH, M.; AJAREM, J.; AHMAD, M. Effects of the perinatal exposure of Gum Arabic on the development, behavior and biochemical parameters of mice offspring. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 7, p. 1332-1338, 2018. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.04.008.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2010a. 852 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. MS elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. **Portal da Saúde**. 2009. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 10, de 09 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, mar. 2010b. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0010_09_03_2010.html>. Acessado em: 8 jun. 2019.
- BRENT, R. L.; GORDON, W. E.; BENNETT, W. E.; BECKMAN, D. A. Reproductive and teratogenic effects of electromagnetic fields. **Reproductive Toxicology**, v. 7, n. 6, p. 535-580, 1993. doi: 10.1016/0890-6238(93)90033-4.
- CARDOSO, B. S.; MACHADO, K. B.; DE PAULA, J. R.; DE PAULA, J. A. M.; CUVINEL, W. M.; AMARAL, V. C. S. Developmental toxicity evaluation of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum, (*E*)-methyl isoeugenol chemotype, in Wistar rats. **Birth Defects Research**, v. 109, n. 16, p. 1292-1300, 2017. doi: 10.1002/bdr2.1075.
- CLARKE, J. H. R.; RATES, S. M. K.; BRIDI, R. Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez. **Infama**, v. 19, n. 1/2, p. 41-48, 2007.
- ČOLOVIĆ, M. B.; KRSTIĆ, D. Z.; LAZAREVIĆ-PAŠTI, T. D.; BONDŽIĆ, A. M.; VASIĆ, V. M. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. **Current Neuropharmacology**, v. 11, n. 3, p. 315-35, 2013. doi: 10.2174/1570159X11311030006.

- COLPO, E.; VILANOVA, C. D.; PEREIRA, R. P.; REETZ, L. G. B.; OLIVEIRA, L.; FARIAS, I. L.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; ROCHA, J. B. Antioxidant effects of *Phyllanthus niruri* tea on healthy subjects. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 7, n. 2, p. 113-118, 2014. doi: 10.1016/S1995-7645(14)60005-5.
- CUNHA, L. C. Ç.; AZEREDO, F. S. Ç.; MENDONÇA, A. C. V.; VIEIRA, M. S. Ç.; PUCCI, L. L. Ç.; VALADARES, M. C.; FREITAS, H. O. G.; SENA, A. A. S.; LINO JUNIOR, R. S. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2A, p. 403-411, 2009. doi: 10.1590/S0102-695X2009000300012.
- D'AVILA, L. F.; DIAS, V. T.; VEY, L. T.; MILANESI, L. H.; ROVERSI, K.; EMANUELLI, T.; BURGER, M. E.; TREVIZOL, F. Toxicological aspects of interesterified fat: brain damages in rats. **Toxicology Letters**, v. 276, p. 122-128, 2017. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.05.020.
- DAY, M.; GOOD, M. Ovariectomy-induced disruption of long-term synaptic depression in the hippocampal CA1 region *in vivo* is attenuated with chronic estrogen replacement. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 83, n. 1, p. 13-21, 2005. doi: 10.1016/j.nlm.2004.06.009.
- DENT, M.P.; WOLTERBEEK, A. P.; RUSSELL, P. J.; BRADFORD, R. Safety profile of *Hoodia gordonii* extract: mouse prenatal developmental toxicity study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 1, p. 520-525, 2012. doi: 10.1016/j.fct.2011.06.017
- DEY, A.; GOMES, A.; DASGUPTA, S. C. Black Tea (*Camellia sinensis*) Extract induced prenatal and postnatal toxicity in experimental albino rats. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, n. 52, p. 769-774, 2018. doi: 10.4103/pm.pm_141_17.
- DOERGE, D. R.; TWADDLE, N. C.; CHURCHWELL, M. I.; NEWBOLD, R. R.; DELCLOS, K. B. Lactational transfer of the soy isoflavone, genistein, in Sprague-Dawley rats consuming dietary genistein. **Reproductive Toxicology**, v. 21, n. 3, p. 307-312, 2006. doi: 10.1016/j.reprotox.2005.09.007.
- DUARTE, A. F. S.; MARTINS, A. L. C.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. O uso de plantas medicinais durante a gravidez e amamentação. **Visão Acadêmica**, v. 18, n. 4, p. 126-139, 2017.
- ECKER, A.; LOSS, C. G.; ADEFEGHA, S. A.; BOLIGON, A. A.; ROMAN, S. S. Safety evaluation of suprathereapeutic dose of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek extracts on fertility and neurobehavioral status of male and pregnant rats. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 90, p. 160-169, 2017. doi: 10.1016/j.yrtph.2017.09.007.
- ELMAZOU DY, R. H.; ATTIA, A. A. Ginger causes subfertility and abortifacient in mice by targeting both estrous cycle and blastocyst implantation without teratogenesis. **Phytomedicine**, 2018. doi: 10.1016/j.phymed.2018.01.021.
- ENNACEUR, A. One-trial object recognition in rats and mice: Methodological and theoretical issues. **Behavioural Brain Research**, v. 215, p. 244-25, 2010. doi: 10.1016/j.bbr.2009.12.036.

EZEONWU, V. U. Antifertility Effects of Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* in Male Albino Rats. **Inquiries Journal**, v. 3, n. 09, 2011.

FEITOSA, C. M.; FREITAS, R. M.; LUZ, N. N. N.; BEZERRA, M. Z. B.; TREVISAN, M. T. S. Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 3, p. 783-789, 2011. doi: 10.1590/S1519-69842011000400025.

FERNÁNDEZ, G. A. I.; CAMARILLO, E. E. S.; RODRIGUEZ I. E. R.; PAZ, A. J. H. Ensayo a ciego simple del efecto hipoglucemiante de *Phyllanthus niruri* (huevo escondido) y su combinación con *Azadirachta indica* (NIM) en ratas wistar. **Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo**, v. 13, n. 2, p. 86-91, 2015.

FRITZ, H.; GIESE, K. Evaluation of the Teratogenic Potential of Chemicals in the Rat. **Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 1-28, 1990. doi: 10.1159/000138688.

FOYET, H. S.; NGATANKO ABAÏSSOU, H. H.; WADO, E.; ACHA, E. A.; ALIN, C. *Emilia coccinea* (SIMS) G Extract improves memory impairment, cholinergic dysfunction, and oxidative stress damage in scopolamine-treated rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 333, p. 1-12, 2015. doi:10.1186/s12906-015-0864-4.

GARAY, M.; KAUR, S.; SOUTHALL, M.; WEN, P. Johnson & Johnson Consumer Companies, Inc. **Extracts of *Phyllanthus niruri***. US n. PI 8,916,209 B2, 7 abr. 2011, 23 dez. 2014.

GERENUTTI, M.; PRESTES, A. F. R. O.; SILVA, M. G.; FIOL, F. S. D.; FRANCO, Y. O.; VENANCIO, P. C.; GROppo, F. C. The effect of *Cecropia glazioui* Snethlage on the physical and neurobehavioral development of rats. **Pharmazie**, v. 63, n. 5., p. 398-404, 2008. doi: 10.1691/ph.2008.7690.

GERENUTTI, M.; SPINOSA, H. S.; BERNARDI, M. M. Effects of bracken fern (*Pteridium aquilinum* L Kuhn) feeding during the development of female rats and their offspring. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 34, n. 4, p. 307-310. 1992.

GIRIBABU, N.; KARIM, K.; KILARI, E. K.; SALLEH, N. *Phyllanthus niruri* leaves aqueous extract improves kidney functions, ameliorates kidney oxidative stress, inflammation, fibrosis and apoptosis and enhances kidney cell proliferation in adult male rats with diabetes mellitus, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 205, p. 123-137, 2017. doi: 10.1016/j.jep.2017.05.002.

GIRIBABU, N.; RAO, P. V.; KUMAR, K. P.; MUNIANDY, S.; REKHA, S. S.; SALLEH, N. Aqueous extract of *Phyllanthus niruri* leaves displays *in vitro* antioxidant activity and prevents the elevation of oxidative stress in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-10, 2014. doi: 10.1155/2014/834815.

GOEL, H. C.; SAJIKUMAR, S.; SHARMA, A. Effects of *Podophyllum hexandrum* on radiation induced delay of postnatal appearance of reflexes and physiological markers in rats irradiated in utero. **Phytomedicine**, v. 9, n. 5, p. 447-454, 2002.

GORRIL, L. E.; JACOMASSI, E.; MELLA JUNIOR, S. E.; DALSENTER, P. R.; GASPAROTTO JUNIOR, A.; LOURENÇO, E. L. B. Risco das plantas medicinais na gestação: uma revisão dos dados de acesso livre em língua portuguesa. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 20, n. 1, p. 67-72, 2016. doi: 10.25110/arqsaude.v20i1.2016.5515.

HERRERO-MERCADO, M.; WALISZEWSKI, S. M.; CABA, M.; MARTINEZ-VALENZUELA, C.; GOMEZ ARROYO, S.; VILLALOBOS PIETRINI, R.; CANTU MARTINEZ, P.C.; HERNANDEZ-CHALATE, F: Organochlorine pesticide gradient levels among maternal adipose tissue, maternal blood serum and umbilical blood serum. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, p. 289–293, 2011. doi: 10.1007/s00128-011-0204-4.

HOLLENBACH, C. B.; BORTOLINI, C. E.; BATISTA, J. M.; HOLLENBACH, E. B.; SCHUCH, T. L.; PACHECO, M. H.; MELLO, F. B.; MELLO, J. R. Desenvolvimento pós-natal e potencial teratogênico da prole de ratos Wistar no estudo da toxicidade reprodutiva de duas preparações fitoterápicas contendo soja *Glycine max* (L.) Merr. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 845-852, 2010. doi: 10.1590/S0102-09352010000400013.

HOLLENBACH, C. B.; STEDILE, R.; MELLO, F. P. S.; BING, R. S.; ROSA, P. P.; RODRIGUES, M. R. A.; MELLO, F. B.; ZANETTE, R. A.; MELLO, J. R. B. Pre- and postnatal evaluation of offspring rats exposed to *Origanum vulgare* essential oil during mating, gestation and lactation. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2017. doi: 10.1590/0103-8478cr20150299.

INAGAKI, T.; GAUTREAUX, C.; LUINE, V. Acute estrogen treatment facilitates recognition memory consolidation and alters monoamine levels in memory-related brain areas. **Hormones and Behavior**, v. 58, n. 3, p. 415-426, 2010. doi: 10.1016/j.yhbeh.2010.05.013.

INDU BALA, J.; CHANDRADEVAN M. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia. **Method for increasing bioactive compounds in *Phyllanthus* species**. MY n. PI 162683 (A), 23 dez. 2011, 14 jul. 2017.

IRANLOYE, B.; OYEUSI, K.; ALADA, A. Effect of aqueous extract of *Phyllanthus amarus* leaves on implantation and pregnancy in rats. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 25, p. 63–66, 2010.

ISLAM, A.; NASKAR, S.; MAZUMDER, U. K.; GUPTA, G.; GHOSAL, S. Estrogenic properties of phyllanthin and hypophyllanthin from *Phyllanthus amarus* against carbofuran induced toxicity in female rats. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 1006-1016, 2008.

JAMKHANDE, P. G.; CHINTAWAR, K. D.; CHANDAK, P. G. Teratogenicity: a mechanism based short review on common teratogenic agents. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 6, p. 421-432, 2014. doi:10.1016/S2222-1808(14)60600-9.

JINQIANG, W. **Antibacterial mouthwash**. CN n. PI 107296774 (A), 21 ago. 2017, 27 out. 2017.

JIVAD, N.; RABIEI, Z. A review study on medicinal plants used in the treatment of learning and memory impairments. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 10, p. 780-789, 2014. doi: 10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0412.

JUNG, H. A.; MIN, B. S.; YOKOZAWA, T.; LEE, J. H.; KIM, Y. S.; CHOI, J. S. Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, n. 8, p. 1433-1438, 2009.

KAUR, N.; KAUR, B.; SIRHINDI, G. Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus niruri* L.: A Review. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 7, p. 980-1004, 2017. doi: 10.1002/ptr.5825.

KAUR, S.; SOUTHALL, M.; TUCKER-SAMARAS, S. Johnson & Johnson Consumer Companies, Inc. **Composiciones que comprenden un inhibidor de NFkB y un promotor de tropoelastina**. ES n. PI 2598153, 01 out. 2010, 20 jul. 2016.

KHALAF-NAZZAL, R.; FRANCIS, F. Hippocampal development - old and new findings. **Neuroscience**, v. 248, p. 225-242, 2013. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.05.061.

KHALKI, H.; KHALKI, L.; ABOUFATIMA, R.; OUACHRIF, A.; MOUNTASSIR, M.; BENHARREF, A.; CHAIT, A. Prenatal exposure to tobacco extract containing nicotinic alkaloids produces morphological and behavioral changes in newborn rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 101, p. 342-347, 2012. doi: 10.1016/j.pbb.2012.01.020.

KHALKI, L.; M'HAMED, S. B.; BENNIS, M.; CHAIT, A.; SOKAR, Z. Evaluation of the developmental toxicity of the aqueous extract from *Trigonella foenum-graecum* (L.) in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 321-325, 2010. doi: 10.1016/j.jep.2010.06.033.

KHAN, H.; MARY; AMIN, S.; KAMAL, M. A.; PATEL, S. Flavonoids as acetylcholinesterase inhibitors: Current therapeutic standing and future prospects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 101, p. 860-870, 2018. doi: 10.1016/j.biopha.2018.03.007.

KIM, W.; YIM, H. S.; YOO, D. Y.; JUNG, H. Y.; KIM, J. W.; CHOI, J. H.; YOON, Y. S.; KIM, D. W.; HWANG, I. K. *Dendropanax morbifera* Léveille extract ameliorates cadmium-induced impairment in memory and hippocampal neurogenesis in rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 452, p. 1-8, 2016. doi: 10.1186/s12906-016-1435-z.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; DA SILVA, L. M.; BOEING, T.; SOMENSI, L. B.; BEBER, A. P.; ROCHA, J. A.; HENRIQUES, A. T.; ANDRADE, S. F.; CECHINEL-FILHO, V. The Protective Potential of *Phyllanthus niruri* and Corilagin on Gastric Lesions Induced in Rodents by Different Harmful Agents. **Planta Medica**, v. 83, n. 1, p. 30-39, 2017. doi: 10.1055/s-0042-107356.

KOAY, Y. H.; BASIRI, A.; MURUGAIYAH, V.; CHAN, K. L. Isocorilagin, a Cholinesterase Inhibitor from *Phyllanthus niruri*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 4, p. 515-517, 2014.

- KUMAR, S.; SINGH, A.; KUMAR, B. Identification and characterization of phenolics and terpenoids from ethanolic extracts of *Phyllanthus* species by HPLC-ESI-QTOF-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 7, n. 4, p. 214-222, 2017. doi: 10.1016/j.jpha.2017.01.005.
- LAADRAOUI, J.; ABOUFATIMA, R.; EL GABBAS, Z.; FEREHAN, H.; BEZZA, K.; AIT LAARADIA, M.; MARHOUME, F.; WAKRIM, E. M.; CHAIT, A. Effect of *Artemisia herba-alba* consumption during pregnancy on fertility, morphological and behaviors of mice offspring. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, p. 105-110, 2018. doi: 10.1016/j.jep.2018.08.017.
- LARNER, A. J. Cholinesterase inhibitors: beyond Alzheimer's disease. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 10, n. 11, p. 1699-1705, 2010. doi: 10.1586/ern.10.105.
- LEE, C.; JEON, J.; PARK, Y. Monitoring trends of technological changes based on the dynamic patent lattice: A modified formal concept analysis approach. **Technological Forecasting & Social Change**, v. 78, n. 4, p. 690-702, 2011. doi: 10.1016/j.techfore.2010.11.010.
- LEE, J.; CHOI, K.; PARK, J.; MOON, H. B.; CHOI, G.; LEE, J. J.; SUH, E.; KIM, H. J.; EUN, S. H.; KIM, G. H.; CHO, G. J.; KIM, S. K.; KIM, S.; KIM, S. Y.; KIM, S.; EOM, S.; CHOI, S.; KIM, Y. D.; KIM S. Bisphenol A distribution in serum, urine, placenta, breast milk, and umbilical cord serum in a birth panel of mother-neonate pairs. **Science of The Total Environment**, v. 626, n. 1, p. 1494-1501, 2018. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.042.
- LEE, N. Y. S.; KHOO, W. K. S.; ADNAN, M. A.; MAHALINGAM, T. P.; FERNANDEZ, A. R.; JEEVARATNAM, K. The pharmacological potential of *Phyllanthus niruri*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 8, p. 953-969, 2016. doi: 10.1111/jphp.12565.
- LEMONICA, I. P. Toxicologia da reprodução. In: OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3^a ed. São Paulo: Atheneu Editora, p. 103-113, 2008.
- LEWICKI, S.; SKOPIŃSKA-RÓŻEWSKA, E.; BAŁAN, B. J.; KALICKI, B.; PATERA, J.; WILCZAK, J.; WASIUTYŃSKI, A.; ZDANOWSKI, R. Morphofunctional Renal Alterations in Progeny of Mice Fed *Rhodiola kirilowii* Extracts or Epigallocatechin During Pregnancy and Lactation. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2017. doi: 10.1089/jmf.2016.0126.
- LEWICKI, S.; STANKIEWICZ, W.; SKOPIŃSKA-RÓŻEWSKA, E.; WILCZAK, J.; LEŚNIAK, M.; SUSKA, M.; SIWICKI, A. K.; SKOPIŃSKI, P.; ZDANOWSKI, R. Spleen content of selected polyphenols, splenocytes morphology and function in mice fed *Rhodiola kirilowii* extracts during pregnancy and lactation. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 18, n. 4, p. 847-855, 2015. doi: 10.1515/pjvs-2015-0110.
- LI, X.; ZHANG, X.; JU, J.; LI, Y.; YIN, L.; PU, Y. Maternal repeated oral exposure to microcystin-LR affects neurobehaviors in developing rats. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 1. p. 64-69, 2015. doi: 10.1002/etc.2765.
- LIN, W. S., LO, J. H., YANG, J. H., WANG, H. W., FAN, S. Z., YEN, J. H., & WANG, P. Y. *Ludwigia octovalvis* extract improves glycemic control and memory performance in

diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 207, p. 211-219, 2017. doi: 10.1016/j.jep.2017.06.044.

LIU, S.; WEI, W.; LI, Y.; LIN, X.; SHI, K.; CAO, X.; ZHOU, M. *In vitro* and *in vivo* anti-hepatitis B virus activities of the lignin nirtetralin B isolated from *Phyllanthus niruri* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, p. 62–68, 2014. doi: 10.1016/j.jep.2014.09.019.

LOOMIS, T. A. **Essential of toxicology**. Philadelphia: Lea and Febige, Philadelphia. 1968.

LOW, B. S.; DAS, P. K.; CHAN, K. L. Acute, reproductive toxicity and two-generation teratology studies of a standardized quassinoid-rich extract of *Eurycoma longifolia* Jack in Sprague-Dawley rats. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 7, p. 1022–1029, 2014. doi: 10.1002/ptr.5094.

LUEPTOW, L. M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. **Journal of visualized experiments**, v. 126, p. 1-9, 2017. doi:10.3791/55718.

LYRA, M. M. A.; COSTA-SILVA, J. H.; LIMA, C. R.; ARRUDA, V. M.; ARAÚJO, A. V.; RIBEIRO E RIBEIRO, A.; ARRUDA, A. C.; FRAGA, M. C. C. A.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Estudo toxicológico reprodutivo da *Azadirachta indica* A JUSS. (Neem) em ratas Wistar. **Revista Fitos**, v. 1, n. 2, p. 53–57, 2005.

MALVE, H. O.; RAUT, S. B.; MARATHE, P. A.; REGE, N. N. Effect of combination of *Phyllanthus emblica*, *Tinospora cordifolia*, and *Ocimum sanctum* on spatial learning and memory in rats. **Journal of Ayurveda Integrative Medicine**, v. 5, n. 4, p. 209-215, 2014. doi: 10.4103/0975-9476.146564.

MAO, X.; WU, L. F.; GUO, H. L.; CHEN, W. J.; CUI, Y. P.; QI, Q.; LI, S.; LIANG, W. Y.; YANG, G. H.; SHAO, Y. Y.; ZHU, D.; SHE, G. M.; YOU, Y.; ZHANG, L. Z. The Genus *Phyllanthus*: An Ethnopharmacological, Phytochemical, and Pharmacological Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-36, 2016. doi: 10.1155/2016/7584952.

MATHEW, M.; SUBRAMANIAN, S.; *In vitro* screening for anti-cholinesterase and antioxidant activity of methanolic extracts of ayurvedic medicinal plants used for cognitive disorders. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0086804.

MARTINS, E. R.; LIMA, L. R.; CORDEIRO, I. Flora do Espírito Santo: *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Rodriguésia**, v. 68, n. 5, p. 1813-1828, 2017. doi: 10.1590/2175-7860201768517.

MARTINS, E. R.; LIMA, L. R.; CORDEIRO, I. *Phyllanthus* (Phyllanthaceae) no estado do Rio de Janeiro. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p. 405-424, 2014. doi: 10.1590/S2175-78602014000200007.

MARTINS, E. R.; LIMA, L. R. Sinopse do gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) do Estado de São Paulo. **Hoehnea**, v. 38, n. 1, p. 123-133, 2011. doi: 10.1590/S2236-89062011000100011.

MEDIANI, A.; ABAS, F.; MAULIDIANI, M.; KHATIB, A.; TAN, C. P.; ISMAIL, I. S.; SHAARI, K.; ISMAIL, A. Characterization of Metabolite Profile in *Phyllanthus niruri* and Correlation with Bioactivity Elucidated by Nuclear Magnetic Resonance Based Metabolomics. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 1-14, 2017. doi: 10.3390/molecules22060902.

MEDIANI, A.; ABAS, F.; MAULIDIANI, M.; KHATIB, A.; TAN, C. P.; ISMAIL, I. S.; SHAARI, K.; ISMAIL, A.; LAJIS, N. H. Metabolic and biochemical changes in streptozotocin induced obese-diabetic rats treated with *Phyllanthus niruri* extract. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 128, p. 302-312, 2016. doi: 10.1016/j.jpba.2016.06.003.

MEENA, R. **Herbal formulation for treatment of hair fall**. IN n. PI 1178CH2013 (A), 19 mar. 2013, 28 ago. 2015.

MELO, M. F. F. T.; PEREIRA, D. E.; MOURA, R. L.; SILVA, E. B.; MELO, F. A. L. T.; DIAS, C. C. Q.; SILVA, M. C. A.; OLIVEIRA, M. E. G.; VIERA, V. B.; PINTADO, M. M. E.; SANTOS, S. G.; SOARES, J. K. B. Maternal Supplementation With Avocado (*Persea americana* Mill.) Pulp and Oil Alters Reflex Maturation, Physical Development, and Offspring Memory in Rats. **Frontiers in Neuroscience**, v. 13, n. 9, p. 1-16, 2019. doi: 10.3389/fnins.2019.00009.

MELO, M. N.; SOARES, L. A. L.; PORTO, C. R. C.; ARAÚJO, A. A.; ALMEIDA, M. G.; SOUZA, T. P.; PETROVICK, P. R.; ARAÚJO JUNIOR, R. F.; GUERRA, G. C. B. Spray-dried extract of *Phyllanthus niruri* L. reduces mucosal damage in rats with intestinal inflammation. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, p. 1107–1118, 2015. doi: 10.1111/jphp.12408.

MIAO, Y.; HE, N.; ZHU, J. J. History and new developments of assays for cholinesterase activity and inhibition. **Chemical reviews**, v. 110, n. 9, p. 5216-5234, 2010. doi: 10.1021/cr900214.

MORGANE, P. J.; AUSTIN-LA FRANCE R.; BRONZINO, J.; TONKISS, J.; DÍAZ-CINTRA, S.; CINTRA, L.; KEMPER, T.; GALLER, JR. Prenatal malnutrition and development of the brain. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 17, n.1, p. 91-128, 1993. doi: 10.1016/s0149-7634(05)80234-9.

MOSTOFA, R.; AHMED, S.; BEGUM, M. M.; RAHMAN, M. S.; BEGUM, T.; AHMED, S. U.; TUHIN, R. H.; DAS, M.; HOSSAIN, A.; SHARMA, M.; BEGUM, R. Evaluation of anti-inflammatory and gastric anti-ulcer activity of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves in experimental rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2017. doi: 10.1186/s12906-017-1771-7.

MUKHERJEE, P. K.; KUMAR, V.; MAL, M.; HOUGHTON, P. J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants. **Phytomedicine**, v. 14, n. 4, p. 289-300, 2007. doi: 10.1016/j.phymed.2007.02.002.

MÜLLER, J. C.; BOTELHO, G. G.; BUFALO, A. C.; BOARETO, A. C.; RATTMANN, Y. D.; MARTINS, E. S.; CABRINI, D. A.; OTUKI, M. F.; DALSENTER, P. R. *Morinda citrifolia* Linn (Noni): *in vivo* and *in vitro* reproductive toxicology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 121, n. 2, p. 229–233, 2009. doi: 10.1016/j.jep.2008.10.019.

MURALIDHAR, T. S.; GOPUMADHAVAN, S.; CHAUHAN, B. L.; KULKARNI, R. D. Lack of Teratogenicity after Administration of D-400, an Oral Hypoglycemic Ayurvedic Formulation, during Gestation and Lactation. **Journal Biological and Chemical Research**, v. 12, p. 151-156, 1993.

NANASHIMA, N.; HORIE, K.; MAEDA, A. Phytoestrogenic activity of blackcurrant anthocyanins is partially mediated through estrogen receptor beta. **Molecules**, v. 23, n. 1, 2018. doi: 10.3390/molecules23010074.

NAVA-MESA, M. O.; LAMPREA, M. R.; MÚNERA, A. Divergent short- and long-term effects of acute stress in object recognition memory are mediated by endogenous opioid system activation. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 106, p. 185–192, 2013. doi: 10.1016/j.nlm.2013.09.002.

NAVARRO, M.; MOREIRA, I.; ARNAEZ, E.; QUESADA, S.; AZOFEIFA, G.; ALVARADO, D.; MONAGAS, M. J. Proanthocyanidin characterization, antioxidant and cytotoxic activities of three plants commonly used in traditional medicine in costa rica: *Petiveria alliacea* L., *Phyllanthus niruri* L. and *Senna reticulata* Willd. **Plants**, v. 6, n. 50, p. 1-13, 2017. doi:10.3390/plants6040050.

NAZIR, N.; KARIM, N.; ABDEL-HALIM, H.; KHAN, I.; WADOOD, S. F.; NISAR M. Phytochemical analysis, molecular docking and anti-amnesic effects of methanolic extract of *Silybum marianum* (L.) Gaertn seeds in scopolamine induced memory impairment in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 210, p. 198-208, 2018. doi: 10.1016/j.jep.2017.08.026.

NILLERT, N.; PANNANGRONG, W.; WELBAT, J. U.; CHAIJAROONKHANARAK, W.; SRIPANIDKULCHAI, K.; SRIPANIDKULCHAI, A. Neuroprotective Effects of Aged Garlic Extract on Cognitive Dysfunction and Neuroinflammation Induced by β -Amyloid in Rats. **Nutrients**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2017. doi: 10.3390/nu9010024.

OLIVEIRA, A. M. M.; HAWK, J. D.; ABEL, T.; HAVEKES, R. Post-training reversible inactivation of the hippocampus enhances novel object recognition memory. **Learning Memory**, v. 17, p. 155–160, 2010. doi: 10.1101/lm.1625310.

OLIVEIRA, C. D. R.; MOREIRA, C. Q.; SPINOSA, H. S.; YONAMINE, M. Neurobehavioral, reflexological and physical development of Wistar rat offspring exposed to ayahuasca during pregnancy and lactation. **Revista Brasileira de farmacognosia**, v. 21, n. 6, p. 1065-1076, 2011. doi: 10.1590/S0102-695X2011005000170.

OLIVEIRA, E. R.; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores do povoado de Manejo, Lima Duarte – MG. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 311-320, 2012. doi: 10.1590/S1516-05722012000200010.

PAITHANKAR, V. V.; RAUT, K. S.; CHARDE, R. M.; VYAS, J. V. *Phyllanthus Niruri*: A magic Herb. **Research in Pharmacy**, v. 1, n. 4, p.1-9, 2011.

- PATEL, S.; SHARMA, V.; CHAUHAN, N. S.; THAKUR, M.; DIXIT, V. K. Evaluation of hair growth promoting activity of *Phyllanthus niruri*, **Avicenna Journal of Phytomedicine**, v. 5, n. 6, p. 512-519, 2015.
- PATIL, A. S.; PAIKRAO, H. M.; KALE, A. S.; MANIK, S. R. A TLC-Direct bioautography method for detection of antiurolithiatic metabolites. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 5, p. 571–577, 2017. doi: 10.1093/chromsci/bmx002.
- PAUL, S.; MODAK, D.; DUTTA, S.; CHAUDHURI, T. K.; BHATTACHARJEE, S. Evaluation of the effectiveness of *Acmella uliginosa* (Sw.) Cass. flower methanolic extract in pain amelioration and memory impairment in the experimental rat models: Search for an alternative remedy over opioid painkillers. **Pharmacognosy magazine**, v. 15, p. 335-345, 2019. doi: 10.4103/pm.pm_71_19.
- PUCCI, N. D.; MARCHINI, G. S.; MAZZUCCHI, E.; REIS, S. T.; SROUGI, M.; EVAZIAN, D.; NAHAS, W. C. Effect of *Phyllanthus niruri* on metabolic parameters of patients with kidney stone: a perspective for disease prevention. **International Brazilian Journal of Urology**, v. 44, n. 4, p. 758-764, 2018. doi: 10.1590 / S1677-5538.IBJU.2017.0521.
- PUTRI, D. U.; RINTISWATI, N.; SOESATYO, M. H.; HARYANA, S. M. Immune modulation properties of herbal plant leaves: *Phyllanthus niruri* aqueous extract on immune cells of tuberculosis patient - *in vitro* study. **Natural Product Research**, v. 32, n. 4, p. 463-467, 2018. doi: 10.1080/14786419.2017.1311888.
- QUEIROZ, F. M.; MATIAS, K. W. O.; CUNHA, M. M. F.; SCHWARZ, A. Evaluation of (anti)genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 1, p. 135-148, 2013. doi: 10.1590/S1984-82502013000100015.
- RACHETTI, A. L. F.; ARIDA, R.M.; PATTI, C. L.; ZANIN, K. C.; FERNADES-SANTOS, L.; FRUSSA-FILHO, R.; GOMES DA SILVA, S.; SCORZA, F. A.; CYSNEIROS, R. M. Fish oil supplementation and physical exercise program: Distinct effects on different memory tasks. **Behavioural Brain Research**, v. 237, p. 283-289, 2013. doi: 10.1016/j.bbr.2012.09.048.
- RANILLA, L. G.; APOSTOLIDIS, E.; SHETTY, K. Antimicrobial Activity of an Amazon Medicinal Plant (Chancapiedra) (*Phyllanthus niruri* L.) against *Helicobacter pylori* and Lactic Acid Bacteria. **Phytotherapy Research**, v. 26, p. 791–799, 2012. doi: 10.1002/ptr.3646.
- RASHED, K.; SAID, A.; FEITOSA, C.; SUCUPIRA, A. C. C. Evaluation of anti-alzheimer activity of *Ampelopsis brevipedunculata* and the isolated compounds. **Research Journal of Phytochemistry**, v. 9, n. 1, p. 16-24, 2015. doi: 10.3923/rjphyto.2015.16.24.
- ROCHA, A. P. T.; LISBOA, H.M.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, O. S. Coating Process of *Phyllanthus niruri* Linn Granules Using Spouted Bed. **Powder Technology**, v. 336, p. 85-91, 2018. doi: 10.1016/j.powtec.2018.05.052.
- RODGERS, A. L.; WEBBER, D.; RAMSOUT, R.; GOHE, M. D. I. Herbal preparations affect the kinetic factors of calcium oxalate crystallization in synthetic urine: implications for

kidney stone therapy. **Urolithiasis**, v. 42, n. 3, p. 221-225, 2014. doi: 10.1007/s00240-014-0654-3.

RODGERS, S. P.; BOHACEK, J.; DANIEL, J. M. Transient estradiol exposure during middle age in ovariectomized rats exerts lasting effects on cognitive function and the hippocampus. **Endocrinology**, v. 151, n. 3, p. 1194–1203, 2010. doi: 10.1210/en.2009-1245.

ROGERS, J. M.; KAVLOCK, R. J. Toxicologia do Desenvolvimento. In: KLAASEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Cassarett e Doull (Lange)**. 2ª ed. Porto Alegre: Mc Graw-Hill Artmed, p. 137-148, 2012.

SANDINI, T. M.; UDO, M. S.; REIS-SILVA, T. M.; BERNARDI, M. M.; SPINOSA, H. D. E. S. Prenatal exposure to integerrimine N-oxide impaired the maternal care and the physical and behavioral development of offspring rats. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 36, p. 53-63, 2014. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2014.05.007.

SANTOS, A. H.; RAMOS, A. C.; SILVEIRA, K. M.; KISS, A. C.; LONGHINI, R.; DINIZ, A.; MELLO, J. C.; GERARDIN, D. C. The exposure to *Trichilia catigua* (catuaba) crude extract impairs fertility of adult female rats but does not cause reproductive damage to male offspring. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 166, p. 86-91, 2015. doi: 10.1016/j.jep.2015.03.018.

SANTOS, E. C. S.; ANTUNES, P. S.; SANTOS F. L. P.; ROCHA, A. O. B.; PITA, J. C. L. R.; XAVIER, A. L.; MACÊDO, C. L.; JACOB, K. C.; OLIVEIRA, N. A. MEDEIROS, A. A. N.; DINIZ, M. F. F. M.; SÁ, R. C. S. Assessment of *Pradosia huberi* effects on the reproductive system of male rats. **Experimental biology and Medicine**, v. 241, n. 5, p. 519-526, 2016. doi: 10.1177/1535370215625133.

SANTOS, V. S. V.; ARANTES, K. M.; GONÇALVES, E. L.; CAMPOS, C. F.; CAMPOS JÚNIOR, E. O.; OLIVEIRA, A. M. M.; PEREIRA, B. B. Contamination of soil and the medicinal plant *Phyllanthus niruri* Linn. with cadmium in ceramic industrial areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 5, p. 1-7, 2018. doi: 10.1007/s10661-018-6693-4.

SECCO, R.; CORDEIRO, I.; MARTINS, E. R.; ZAPPI, D. 2015. Phyllanthaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24168>>. Acesso em: 08 jun. 2018.

SHANMUGAM, B.; SHANMUGAM, K. R.; RAVI, S.; SUBBAIAH, G. V.; RAMAKRISHANA, C.; MALLIKARJUNA, K.; REDDY, K. S. Exploratory Studies of (-) Epicatechin, a Bioactive Compound of *Phyllanthus niruri*, on the Antioxidant Enzymes and Oxidative Stress Markers in D-galactosamine-induced Hepatitis in Rats: A Study with Reference to Clinical Prospective. **Pharmacognosy Magazine**, v. 13, p. S56-S62, 2017. doi: 10.4103/0973-1296.203973.

SHARIFABAD M, H.; ESFANDIARY E. The effects of maternal administration of *Boswellia* gum resin (frankincense) during lactation on stereological parameters of rat hippocampus. **Journal of Isfahan Medical School**, v. 29, n 165, p. 1-10

SHARMA, A.; SHETTY, M.; PARIDA, A.; ADIGA, S.; KAMATH, S.; SOWJANYA. Effect of ethanolic extract of *Acacia auriculiformis* leaves on learning and memory in rats. **Pharmacognosy Research**, v. 6, n. 3, p. 246–250, 2014. doi: 10.4103/0974-8490.132605.

SHARMA, V.; KAUSHIK, S.; PANDIT, P.; DHULL, D.; YADAV, J. P.; KAUSHIK, S. Green synthesis of silver nanoparticles from medicinal plants and evaluation of their antiviral potential against chikungunya virus. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 1, p. 1- 11, 2018. doi: 10.1007/s00253-018-9488-1.

SMART, J. L.; DOBBING, J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behaviour in the rat. **Brain Research**, v. 28, n. 1, p. 85-95, 1971. doi: 10.1016/0006-8993(71)90526-9.

SONI, M.; RAHARDJO, T. B.; SOEKARDI, R.; SULISTYOWATI, Y.; LESTARININGSIH; YESUFU-UDECHUKU, A.; IRSAN, A.; HOGERVORST, E. Phytoestrogens and cognitive function: a review. **Maturitas**, v. 77, n. 3, p. 209-220, 2014. doi: 10.1016/j.maturitas.2013.12.010.

SOUCHET, B.; DUCHON, A.; GU, Y.; DAIROU, J.; CHEVALIER, C.; DAUBIGNEY, F.; NALESSO, V.; CRÉAU, N.; YU, Y.; JANEL, N.; HERAULT, Y.; DELABAR, J. M. Prenatal treatment with EGCG enriched green tea extract rescues GAD67 related developmental and cognitive defects in Down syndrome mouse models. **Scientific Reports**, v. 9, n. 3914, p. 1-13, 2019. doi:10.1038/s41598-019-40328-9.

SOUCY, N. V.; PARKINSON, H. D.; SOCHASKI, M. A.; BORGHOFF, S. J. Kinetics of genistein and its conjugated metabolites in pregnant Sprague Dawley rats following single and repeated genistein administration. **Toxicological Sciences**, v. 90, p. 230-240. 2006. doi: 10.1093/toxsci/kfj077.

SOUZA, M. N. C.V.; TANGERINA, M. M. P.; SILVA, V. C.; VILEGAS, W.; SANNOMIYA, M. Plantas medicinais abortivas utilizadas por mulheres de UBS: etnofarmacologia e análises cromatográficas por CCD e CLAE. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, p. 763-773, 2013. doi: 10.1590/S1516-05722013000500018.

SPRENGER, R. F.; CASS, Q. B. Characterization of four *Phyllanthus* species using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1291, p. 97– 103, 2013. doi: 10.1016/j.chroma.2013.03.030.

SUNITHA, J.; KRISHNA, S.; ANANTHALAKSHMI, R.; JEEVA, J. S.; GIRIJA, A. S.; JEDDY, N. Antimicrobial Effect of Leaves of *Phyllanthus niruri* and *Solanum nigrum* on Caries Causing Bacteria: An *In vitro* Study. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 11, n. 6, p. KC01-KC04, 2017. doi: 10.7860/JCDR/2017/23602.10066.

TAHERI, F.; SEPEHRI, G.; SHEIBANI, V.; SHARIFIFAR, F. Amelioration of prenatal lead-induced learning and memory impairments by methanolic extract of *Zataria multiflora* in male rats. **Basic and Clinical Neuroscience**, v. 10, n. 2, p. 175–184, 2019. doi: 10.32598/bcn.9.10.105.

TANG, Y. Q.; JAGANATH, I. B.; MANIKAM, R.; SEKARAN, S. D. Inhibition of MAPKs, Myc/Max, NFκB, and hypoxia pathways by *Phyllanthus* prevents proliferation, metastasis

and angiogenesis in human melanoma (MeWo) cancer cell line. **International Journal of Medical Sciences**, v. 11, n. 6, p. 564-577, 2014. doi: 10.7150/ijms.7704.

TANG, Y. Q.; JAGANATH, I. B.; MANIKAM, R.; SEKARAN, S. D. *Phyllanthus spp.* exerts anti-angiogenic and anti-metastatic effects through inhibition on matrix metalloproteinase enzymes. **Nutrition and Cancer**, v. 67, n. 5, p. 1-13, 2015. doi: 10.1080/01635581.2015.1040518.

TCHOUMTCHOUA, J.; MOUCHILI, O. R.; ATEBA, S. B.; ZINGUE, S.; HALABALAKI, M.; MBANYA, J. C.; SKALTSOUNIS, A. L.; NJAMENA, D. Safety assessment of the methanol extract of the stem bark of *Amphimas pterocarpoides* Harms: Acute and subchronic oral toxicity studies in Wistar rats. **Toxicology Reports** v. 1, p. 877-884, 2014. doi: 10.1016/j.toxrep.2014.10.003.

THAKUR, I.; DEVI, P. U.; BIGONIYA, P. Protection against radiation clastogenicity in mouse bone marrow by *Phyllanthus niruri*. **Indian journal of experimental biology**, v. 49, p. 704-710, 2011.

THIPPESWAMY, A. H.; SHIRODKAR, A.; KOTI, B. C.; SADIQ, A. J.; PRAVEEN, D. M.; SWAMY, A. H.; PATIL, M. Protective role of *Phyllanthus niruri* extract in doxorubicin-induced myocardial toxicity in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 43, n. 1, p. 31-35, 2011. doi: 10.4103/0253-7613.75663.

TONGYONG, Z. Xining Yige Intellectual Property Consulting Service Co., Ltd. **Traditional Chinese medicine composition for treating hepatitis B and preparation method thereof**. CN n. PI 104474401 (A), 03 dez. 2014, 01 abr. 2015.

TRABACE, L.; TUCCI, P.; CIUFFREDA, G.; MATTEO, H.; FORTUNATO, F.; CAMPOLONGO, P.; TREZZA, V.; CUOMO, V. "Natural" relief of pregnancy-related symptoms and neonatal outcomes: above all do no harm. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 396-402, 2015. doi: 10.1016/j.jep.2015.08.046.

TRAPÉ, A. Z. O caso dos agrotóxicos. In: ROCHA, L. E.; RIGOTTO, R. M.; BUSCHINELLI, J. T. P. **Isto é Trabalho de Gente? Vida, doença e trabalho no Brasil**. Petrópolis: Vozes, p. 56-75, 1994.

TSIAOUSSIS, J.; HATZIDAKI, E.; DOCEA, A. O.; NIKOLOUZAKIS, T. K.; PETRAKIS, D.; BURYKINA, T.; MAMOULAKIS, C.; MAKRIGIANNAKIS, A.; TSATSAKIS, A. Molecular and clinical aspects of embryotoxicity induced by acetylcholinesterase inhibitors. **Toxicology**, v. 409, n. 1, p. 137-143, 2018. doi: 10.1016/j.tox.2018.07.018.

TÜRKAN, F.; TASLIMI, P.; SALTAN, F. Z. Tannic acid as a natural antioxidant compound: Discovery of a potent metabolic enzyme inhibitor for a new therapeutic approach in diabetes and Alzheimer's disease. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 33, p. 1-6, 2019. doi: 10.1002/jbt.22340.

UCHE-NWACHI, E. O.; MCEWEN, C. Teratogenic effect of the water extract of bitter gourd (*Momordica charantia*) on the sprague dawley rats. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 7, n. 1, p. 24-33, 2010. doi: 10.4314/ajtcam.v7i1.57228.

UDDIN, M. S.; MAMUN, A. A.; IQBAL, M. A.; ISLAM, A.; HOSSAIN, M. F.; KHANUM, S.; RASHID, M. Analyzing nootropic effect of *Phyllanthus reticulatus* Poir. on cognitive functions, brain antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activity against aluminium-induced Alzheimer's model in rats: applicable for controlling the risk factors of Alzheimer's disease. **Advances in Alzheimer's Disease**, v. 5, n. 3, p. 87–102, 2016. doi: 10.4236/aad.2016.53007.

VAHEDI, M. M.; MAHDIAN, D.; JAFARIAN, A. H.; IRANSHAHI, M.; ESMAEILIZADEH, M.; GHORBANI, A. Toxicity assessment of *Ferula gummosa* administration during pregnancy, lactation, and juvenile period in rat. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 2, p. 1-7, 2018. doi: 10.1080/01480545.2017.1337126.

VANHEES, K.; GODSCHALK, R. W.; SANDERS, A.; VAN WAALWIJK VAN DOORN-KHOSROVANI, S. B.; VAN SCHOOTEN, F. J. Maternal quercetin intake during pregnancy results in an adapted iron homeostasis at adulthood. **Toxicology**, v. 290, n. 2-3, p. 351–359, 2011. doi: 10.1016/j.tox.2011.10.017.

VANZELER, M. L. A.; BARROS, W. M.; NASELLO, A. G.; LOPES, L. Ensaios preliminares em ratas Wistar com extrato hidroetanólico de calunga (*Simaba ferruginea* St. Hil.) v.o., nas fases gestacionais de implantação, organogênese e período fetal: interferências na prole. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 3, p. 454-461, 2015. doi: 10.1590/1983-084X/10_131.

VIJAYALAKSHMI; ADIGA, S.; BHAT, P.; CHATURVEDI, A.; BAIRY, K. L.; KAMATH, S. Evaluation of the effect of *Ferula asafoetida* Linn. gum extract on learning and memory in Wistar rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 82-87, 2012. doi: 10.4103/0253-7613.91873.

WANG, D.; MENG, J.; GAO, H.; XU, K.; XIAO, R.; ZHONG, Y.; LUO, X.; YAO, P.; YAN, H.; LIU, L. Evaluation of reproductive and developmental toxicities of Pu-erh black tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) extract in Sprague Dawley rats. **Journal Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 190-198, 2013. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.009.

WEB OF SCIENCE. Derwent Innovations Index – DII (Clarivate Analytics). *Phyllanthus niruri*. 2019. Disponível em: <<https://www.webofknowledge.com>>. Acesso em: 13 jul. 2019.

WEI, W.; LI, X.; WANG, K.; ZHENG, Z.; ZHOU, M. Lignans with anti-hepatitis B virus activities from *Phyllanthus niruri* L. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 7, p. 964-968, 2012. doi: 10.1002/ptr.3663.

XI, S.; SUN, W.; WANG, F.; JIN, Y.; SUN, G. Transplacental and early life exposure to inorganic arsenic affected development and behavior in offspring rats. **Archives of toxicology**, v. 83, n. 6, p. 549-556, 2009. doi: 10.1007/s00204-009-0403-5.

XUYING, W.; JIANGBO, Z.; YUPING, Z.; XILI, M.; YIWEN, Z.; TIANBAO, Z.; WEIDONG, Z. Effect of astragaloside IV on the general and peripartum reproductive toxicity in Sprague Dawley rats. **International Journal of Toxicology**, v. 29, n. 5, p. 505-516, 2010. doi: 10.1177/1091581810376840.

YAGHMAEI, P.; PARIVAR, K.; MASOUDI, A.; DARAB, M.; AMINI, E. The effect of silybin on passive avoidance learning and pathological changes in hippocampal CA1 and DG regions in male Wistar rats offspring. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, n. 6, p. 514-522, 2009. doi: 10.1080/10286020902927864.

YEOMANS, J. S.; LI, L.; SCOTT, B. W.; FRANKLAND, P. W. Tactile, acoustic and vestibular systems sum to elicit the startle reflex. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 1-11, 2002. doi: 10.1016/s0149-7634(01)00057-4.

YIMAM, M.; LEE, Y. C.; HYUN, E. J.; JIA, Q. Reproductive and Developmental Toxicity of Orally Administered Botanical Composition, UP446-Part II: Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function in Sprague-Dawley Rats. **Birth Defects Research. Part B, Developmental Reproductive and Toxicology**, v. 104, n. 4, p. 153-165, 2015. doi: 10.1002/bdrb.21142.

YONG, W. **Chinese herbal medicine toothpaste and preparation method**. CN n. PI 104873416 (A), 12 maio 2015, 02 set. 2015.

YOSHIDA, S.; NUMACHI, Y.; MATSUOKA, H.; SATO, M. The absence of impairment of cliff avoidance reaction induced by subchronic methamphetamine treatment in inbred strains of mice. **The Tohoku Journal of Experimental Medicine**, v. 190, p. :205–212, 2000. doi: 10.1620/tjem.190.205.

ZDANOWSKI, R.; LEWICKI, S.; SIKORSKA, K.; ŻMIGRODZKA, M.; BUCHWALD, W.; WILCZAK, J.; SKOPIŃSKA-RÓŻEWSKA, E. The influence of aqueous and hydro-alcoholic extracts of roots and rhizomes of *Rhodiola kirilowii* on the course of pregnancy in mice. **Central European Journal of Immunology**, v. 39, n. 4, p. 471-475, 2014. doi: 10.5114/ceji.2014.47731.

ZHAO, L.; MAO, Z.; CHEN, S.; SCHNEIDER, L. S.; BRINTON, R. D. Early intervention with an estrogen receptor β -selective phytoestrogenic formulation prolongs survival, improves spatial recognition memory, and slows progression of amyloid pathology in a female mouse model of Alzheimer's disease. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 37, n. 2, p. 403–419, 2013. doi: 10.3233/JAD-122341.

ZHANG, Y.; LI, N.; YANG, J.; ZHANG, T.; YANG, Z. Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in newborn Wistar rats. **Brain Research Bulletin**, v. 83, n. 1-2, p. 1-8. 2010. doi: 10.1016/j.brainresbull.2010.06.005.

ZHENG, Z. Z.; CHEN, L. H.; LIU, S. S.; DENG, Y.; ZHENG, G. H.; GU, Y.; MING, Y. L. Bioguided Fraction and Isolation of the Antitumor Components from *Phyllanthus niruri* L. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-7, 2016. doi: 10.1155/2016/9729275.

ZHOU, L.; ZHOU, J.; JIANG, J.; YANG, Y.; HUANG, Q.; YAN, D.; XU, L.; CHAI, Y.; CHONG, L.; SUN, Z. Reproductive toxicity of ZishenYutai pill in rats: Perinatal and postnatal development study. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 81, p. 120–127, 2016. doi:10.1016/j.yrtph.2016.07.015.

APÊNDICE

INOVAÇÃO E PRODUÇÃO CIENTÍFICA ACERCA DA *Phyllanthus niruri* Linn.: UMA ANÁLISE COMPARATIVA

RESUMO

Phyllanthus niruri Linn, espécie herbácea pertencente à família Phyllanthaceae, conhecida popularmente por “quebra-pedra”, é uma planta utilizada na medicina tradicional para tratar várias doenças. Possui uma variedade de propriedades farmacológicas que são favoráveis ao desenvolvimento e inovação de novos fármacos e medicamentos. Portanto, objetivou-se realizar um estudo comparativo, a partir do mapeamento científico e tecnológico, por meio da análise das patentes depositadas em bancos de dados e dos artigos científicos relacionados a *P. niruri*. A coleta de dados foi realizada sem nenhuma limitação temporal, a partir da consulta da base de dados *Web of Science* e das bases de busca de patentes do INPI, JPO, USPTO, AusPat, CIPO, LATPAT-Espacenet e EPO-Espacenet. Os resultados apontaram 68 documentos de patentes depositados entre 1985 e 2017, tendo o Japão como o maior depositante. Por outro lado, dos 293 artigos publicados entre 1950 e 2018 o país com maior número de publicações é a Índia. O Brasil apresentou apenas um registro de patente e cinquenta e um artigos publicados envolvendo a matriz vegetal prospectada. O maior percentual de depósitos de patentes e de publicações científicas relacionadas à *P. niruri* contemplam seu emprego como medicinal, resultado das diversas propriedades biológicas. Além disso, as principais aplicações das patentes compreendem ainda o uso da *P. niruri* como ingrediente ativo em preparações cosméticas e em produtos para higiene pessoal. Portanto, conclui-se que, apesar da *P. niruri* ser uma espécie de importante relevância medicinal, nota-se que o Brasil possui apenas interesse científico.

Palavras-chave: *Phyllanthus niruri*, publicações científicas, depósitos de patentes.

INTRODUÇÃO

Phyllanthus niruri Linn, espécie pertencente à família Phyllanthaceae, é uma erva anual de pequeno porte, medindo até 60 cm de altura, encontrada em regiões tropicais e subtropicais (KAUR et al., 2017; MEDIANI et al., 2017; SANTOS et al., 2018), em especial na América do Sul, Índia e China (ROCHA et al., 2018). Apresenta ampla distribuição geográfica no território brasileiro, onde é conhecida popularmente como “quebra-pedra”, ela ocorre nos biomas Amazônia, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica (SECCO et al., 2015).

Na medicina tradicional a *P. niruri* é largamente utilizada no tratamento de doenças no continente Asiático, Africano e na América do Sul (MAO et al., 2016). De forma geral, é amplamente reconhecida pelas suas propriedades terapêuticas no combate de cálculos renais e biliares, empregado no tratamento da hipertensão arterial, diarreia, hepatites B e C, possui ação

analgésica, relaxante muscular e dos ureteres (PAITHANKAR et al., 2011). Em vários estudos, extratos e constituintes isolados da *P. niruri* demonstram importantes atividades farmacológicas, a citar: hepatoprotetora, imunomoduladora na tuberculose, anti-inflamatória, anticâncer, antiviral, antimalárica, analgésica, antimicrobiana, antiurolítica, gastroprotetora, entre outras (LEE et al., 2016; MAO et al., 2016; KAUR et al., 2017).

Em virtude da importância da *P. niruri*, há um grande interesse de diferentes setores industriais, instituições de pesquisas e dos centros acadêmicos no estudo e proteção tecnológica de produtos e processos relacionados a esta espécie. Deste modo, a melhor forma de proteger uma informação tecnológica é através de patentes, pois permite ao titular de uma invenção, produto ou processo, a exclusividade temporária (15 a 20 anos) e territorial de sua exploração, garantindo a possibilidade de retorno do investimento aplicado (JUNGMANN; BONETTI, 2010; JANNUZZI; VASCONCELLOS, 2017).

Uma vez depositada e publicada, as patentes não só representam um registro de propriedade, como também é considerada uma fonte excepcional de informação científica e tecnológica, uma vez que disponibiliza a informação mais recente sobre o estado da arte e, ainda, oferece informações de caráter legal e comercial, que podem ser úteis tanto para inventores, como instituições de pesquisa (PIMENTA, 2017). Segundo Reymond e Quoniam (2016), essas informações são em sua maioria negligenciadas ou estão ausentes dos processos de busca bibliográfica, embora as informações contidas em patentes, além de se caracterizarem como a primeira fonte de publicação, nem sempre estas informações são divulgadas em qualquer outro meio, posteriormente, caracterizando-as, muitas vezes, como uma fonte única de informação, em especial para substâncias químicas (BREGONJE, 2005; PIMENTA, 2017). Fato confirmado por Asche (2017), ao afirmar que cerca de 80% das informações técnicas são publicadas apenas em patentes, dependendo da área de estudo, sendo necessário pesquisar tanto em artigos científicos quanto na literatura de patentes para uma cobertura abrangente de um determinado tópico.

As informações contidas nas patentes podem servir como fonte de ideias para novas pesquisas que aproveitem conhecimentos e experiências, adequando-as a demandas específicas ou apontando novos caminhos, bem como indicando alternativas técnicas à tecnologia protegida (PIMENTA, 2017). Dessa forma, o uso e análise das informações provenientes dos documentos de patentes em estudos de prospecção tecnológica, se mostra uma potente ferramenta e um instrumento bastante eficaz no apoio à tomada de decisão, permitindo aos pesquisadores evitar reproduções de experimentos (TOMIOKA et al., 2010; AMPARO et al., 2012).

Do ponto de vista científico, inúmeras pesquisas científicas referentes aos vários aspectos das propriedades da *P. niruri* foram publicadas, o que indica o interesse científico e consequentemente uma busca por novos produtos a partir dessa planta. Portanto, devido as suas potencialidades terapêuticas, que a caracterizam como uma espécie vegetal propícia ao desenvolvimento e inovação de novos fármacos e medicamentos, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo comparativo, a partir do mapeamento científico e tecnológico, por meio da análise de informações contidas em patentes depositados em sete bancos de dados e dos artigos indexados na base de dados *Web of Science*, como forma de analisar a produção de conhecimento científico e tecnológico a respeito da *P. niruri*.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo de caráter descritivo exploratório com abordagem do tipo quantitativa, uma vez que houve a necessidade da investigação do objeto de estudo, a *P. niruri*, através de uma revisão e mediante uso de indicadores quantitativos de produção científica e tecnológica (PEREIRA et al., 2017). Ambas as buscas foram realizadas durante o período de outubro de 2019.

Inicialmente foi realizada uma busca por artigos científicos na plataforma de periódicos *Web of Science*, sem nenhuma limitação temporal, utilizando a palavra-chave “*Phyllanthus niruri*”. A escolha pela plataforma de periódicos *Web of Science* foi devido a mesma apresentar mais de doze mil títulos de periódicos com disponibilidade de acesso ao seu conteúdo desde 1945 até o presente, disponibilizando ferramentas que permitem análises bibliométricas, com acesso ao seu conteúdo integral através do portal de periódicos da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, através da plataforma *ISI Web of Knowledge* (CAPES, 2019).

Os dados bibliográficos extraídos dos artigos, a partir do resultado da pesquisa, foram exportadas para o *Microsoft Office Excel*, nos quais foram agrupados e inseridos em gráficos para serem analisados em relação aos seguintes aspectos: países de origem, instituições mais representativas, temporalidade e as áreas de conhecimento, permitindo a execução de uma análise comparativa entre a publicação de artigos científicos e o registro de patentes, uma vez que esse tipo de mapeamento possibilita a visualização de campos tecnológicos e campos científicos relacionados (VAN RAAN, 2017).

Para a pesquisa das tecnologias protegidas ou descritas em documentos de patentes referente à *P. niruri*, foi realizado um mapeamento de patentes depositadas, com intuito de

analisar e conhecer os aspectos da inovação e do progresso tecnológico global sobre o uso da referida espécie nos mais diversos campos de aplicação, feita através da recuperação de informações nos bancos de dados de patentes. A opção pelo monitoramento de patentes se deu por ser a metodologia prospectiva mais empregada, principalmente por empresas, para explicar os aspectos da inovação tecnológica (LEE et al., 2011).

As seguintes bases de dados foram selecionadas: INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), que permite a busca de documentos de patente depositados no Brasil; JPO (*Japan Patent Office*), escritório de patentes do Japão, que fornece informações traduzidas de patentes japonesas; USPTO (*United States Patent and Trademark Office*), que permite pesquisar patentes concedidas nos Estados Unidos; AusPat, gerida pelo escritório australiano de propriedade intelectual; CIPO (*Canadian Intellectual Property Office*), banco de dados canadense de patentes; LATIPAT-Espacenet, portal que permite a busca de informações técnicas em espanhol e português de documentos de patentes de vários países da América Latina e Espanha; e EPO-Espacenet (*European Patent Office*), serviço de busca de patentes oferecido pelo Escritório Europeu de Patentes. Estes bancos de dados foram selecionados preferivelmente por permitir uma busca acessível e fornecer informações de patentes a nível local e global, além do fato de estarem entre os vinte principais escritórios de patentes do mundo, conforme dados da *World Intellectual Property Organization - WIPO* (WIPO, 2019).

Vale ressaltar que alguns destes escritórios de patentes, a citar: o americano, japonês e o europeu, compreendem três dos principais e maiores escritórios no mundo atualmente (WIPO, 2019), caracterizando como banco de dados global de patentes, essenciais e insubstituíveis para esse tipo de estudo, conforme comprovado por Kim e Lee (2015), ao analisar as características dos principais bancos de patentes utilizados em estudos de prospecção.

Para a coleta dos dados bibliográficos das patentes utilizou-se as seguintes palavras-chave: “*Phyllanthus niruri*”, “quebra-pedra”, “Chanca piedra” e “Shatter Stone”, as quais foram inseridas, por meio do sistema de pesquisa avançada, nos campos “resumo”, “título” e “resumo ou título”, este último, para as buscas nos bancos de dados de patentes da EPO e LATIPAT, permitindo a recuperação de documentos que contenham qualquer um desses termos no título e/ou resumo das patentes. As buscas foram realizadas sem nenhuma limitação temporal, na qual o período focal vai de 1985 a 2017, considerando o ano de depósito das patentes mais antigas, até o presente.

Para maximizar as possibilidades de se encontrar os documentos de patentes nas bases de dados pesquisadas, as palavras-chave utilizadas nas buscas consistiram no próprio nome científico da espécie (“*Phyllanthus niruri*”) e de alguns nomes comuns de ampla descrição nos

artigos científicos, as quais se referem a esta espécie, a saber: “quebra-pedra”, “Chanca piedra” e “Shatter Stone”. Os três últimos se referem à nomes comuns encontrados principalmente em artigos de origem latino-americana, espanhola, americana e europeia, podendo ser encontradas ainda em artigos de origem asiática.

As patentes recuperadas foram verificadas, manualmente, um a um cada documento, sendo considerados válidos apenas os documentos de patentes que se referissem à espécie *P. niruri*. Para tal, foram necessárias leituras dos resumos das patentes e quando necessário à leitura de suas “reivindicações”. Após exclusão dos documentos de patentes duplicados e daqueles sem qualquer relação com a matriz vegetal prospectada, o conjunto de dados de patentes obtido foi analisado sob diversos aspectos, a citar: cronologia, países de depósito, instituições depositantes, situação atual do estado das patentes e os campos tecnológicos, representados pelos códigos de Classificação Internacional de Patentes (CIP), entre outros. Permitindo ao final, a realização de um estudo comparativo entre os artigos e os documentos de patentes.

Importante ressaltar a impossibilidade de análise dos documentos ainda não publicados, devido à exigência legal do cumprimento do período de sigilo. Dessa forma, buscas realizadas em datas posteriores poderão recuperar documentos que ainda não tinham sido publicados na época de realização do presente estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A estratégia de busca utilizada permitiu a recuperação de 68 documentos de patentes depositados entre 1985 e 2017, que incluem patentes em qualquer um de seus estados atuais (concedidas, expiradas, abandonadas/arquivadas, pendentes, indeferidas e indisponíveis/ativas). Entre os 68 registros de patentes recuperados, 52 patentes foram recuperadas através do campo de busca “resumo”, enquanto 16 patentes foram recuperadas através da presença das palavras-chave no título. Embora Xie e Miyazaki (2013) tenham mostrado que o método mais eficaz de recuperar patentes é através da pesquisa das palavras-chave no título, resumo e reivindicações, decidiu-se permanecer com as buscas por patentes apenas com o uso das palavras-chave inseridas e pesquisadas nos campos título e resumo, uma vez que exclui a recuperação de patentes irrelevantes, ou seja, quando estas apresentam as palavras-chave apenas nas reivindicações, indicando, que essas patentes não estão centradas em aplicações importantes de usos ou transformações referentes à tecnologia abordada (DOU; KISTER, 2016).

Em relação aos bancos de dados, os resultados da Tabela 3 demonstram que o EPO possui o maior número de depósitos de patentes referentes à tecnologia estudada, com um total de 44 documentos recuperados, equivalente a 64,7%, seguido pelo JPO com 7, a frente dos bancos de patentes americano e canadense (USPTO e CIPO), ambos com 6, e do INPI e AusPat, ambos com 2 patentes recuperadas, por último encontra-se o LATIPAT com apenas um documento recuperado.

Tabela 3. Número de documentos de patentes recuperadas por banco de dados.

Palavra-chave	Banco de Dados						
	INPI	JPO	USPTO	LATIPAT	EPO	CIPO	AusPat
<i>Phyllanthus niruri</i>	1	6	6	1	42	6	2
Quebra-pedra	1	0	0	0	0	0	0
Chanca piedra	0	1	0	0	2	0	0
Shatter stone	0	0	0	0	0	0	0
Total ^a	2	7	6	1	44	6	2

^aDados representativos do número total de patentes excluindo as duplicatas.

A respeito da maior quantidade de patentes recuperadas no banco de registros de patentes da EPO, resultado este já era esperado, é justificado pelo fato do mesmo conter mais de 100 milhões de documentos de patentes provenientes de vários países, que o caracteriza como um dos principais e maiores bancos de patentes no mundo e, portanto, representa tendências globais no desenvolvimento de tecnologias de ponta em quase todos os campos tecnológicos (WIPO, 2019). Em relação ao escritório brasileiro de patentes, embora possua duas patentes depositadas em seu banco de dados, apenas uma patente é proveniente de depositante residente, enquanto a outra patente tem como país depositante os Estados Unidos.

Todas as patentes foram analisadas inicialmente quanto ao seu estado atual, sendo então classificadas em: concedida, expirada, abandonada/arquivada, pendente, indeferida/rejeitada e indisponível quando não foi possível encontrar o *status* legal atual das mesmas. De um total de 68 documentos de patentes, apenas 17, correspondem a documentos que após serem analisadas pelos escritórios de patentes, de cada país correspondente, tiveram suas concessões deferidas (Figura 10). Por se tratar em grande parte de documentos com data de depósito anterior aos anos 2000, 19 registros de patentes tiveram sua concessão expirada. Chama à atenção a quantidade considerável de patentes analisadas que se encontram com alguma pendência (12 documentos); que foram abandonadas devido à falta de pagamento de anuidades, levando ao seu arquivamento (9 documentos); e que tiveram suas concessões indeferidas/rejeitadas (7

documentos). Foram encontradas ainda, 4 patentes que se encontravam ativas, porém com o *status* atual não disponibilizado pelos respectivos escritórios de patentes.

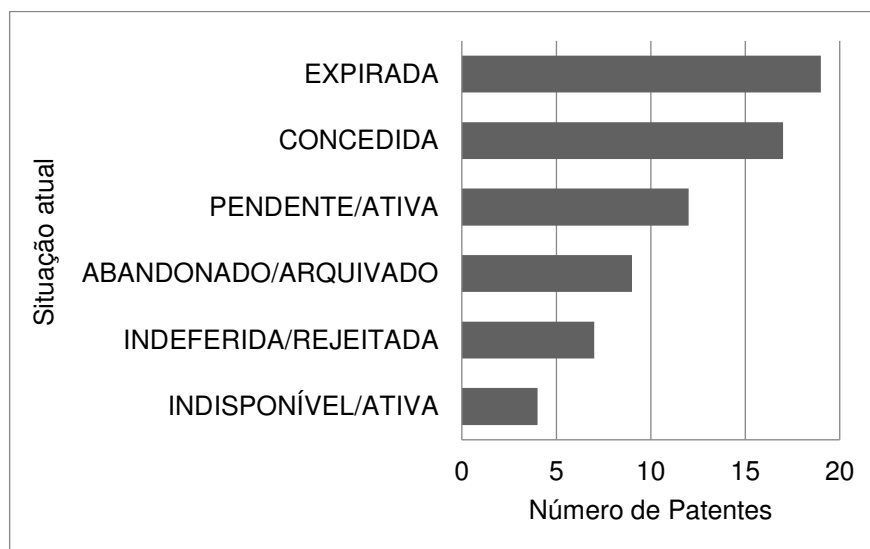


Figura 10. *Status* legal atual dos documentos de patentes recuperados.

Importante ressaltar a recuperação da patente intitulada “*Extracts of Phyllanthus niruri* (*Extratos de Phyllanthus niruri*)” de titularidade da *Johnson & Johnson Consumer Companies*, que após ser analisada pelos escritórios de patentes da USPTO e EPO, a mesma teve sua concessão deferida, porém quando depositado no escritório de patentes brasileiras, o INPI, sua concessão foi indeferida. Portanto, embora semelhantes, por se tratar da obtenção de uma fração com baixo peso molecular útil para o tratamento dos sinais de envelhecimento, inflamações, ou para clareamento da pele, as patentes tiveram resultados de concessão diferentes entre os países de depósito. Fato que pode ser justificado devido alguns escritórios serem mais rigorosos quanto aos requisitos de patenteabilidade, principalmente quando se refere ao patrimônio genético, enquanto outros são relativamente mais permissíveis, causando discrepâncias entre documentos da mesma família de patentes. Outro ponto a ser considerado, refere-se às exigências das especificações formais dos pedidos de patentes que diferem entre os países, sendo mais ou menos criteriosos, de acordo com cada escritório (NAGAOKA et al., 2010; BRAGA et al., 2018).

Quanto à evolução anual do número de patentes recuperadas, a Figura 11 apresenta a quantidade de patentes recuperadas nos bancos de dados de patentes, entre 1985 e 2017, em que a evolução temporal no número de patentes apresenta um comportamento oscilatório, exibindo um aumento no número de registros de patentes ainda na década de 90, a partir do ano de 1994, porém sem consistência ao passar dos anos, seguido de uma queda brusca seis anos

após, mantendo uma média de 2 patentes por ano, entre os anos de 2002 a 2009, seguidos de uma ascensão no número de depósitos de patentes no ano de 2010 com 9 documentos recuperados, porém, novamente sem consistência ao passar dos anos, exibindo um declínio a partir do ano seguinte, contudo manteve uma média de 3 patentes por ano, entre os anos de 2010 e 2017. É possível observar que apenas cerca de 40% dos documentos de patentes foram depositadas nos últimos dez anos. Isso indica que os depósitos de patentes relacionadas à *P. niruri* e tecnologias correlatas foram progressivamente pouco expressivos, em termos de quantidade, nos últimos anos, o que pode explicar esse comportamento oscilatório na evolução temporal dos pedidos de patente depositados, pois a princípio, não há razões aparente que permitam explicar tal comportamento nos depósitos de patentes.

Porém, ao levar em consideração a tendência mundial do número de patentes, é possível observar um desaceleramento dos pedidos de patentes no mundo, representada por uma queda significativa no ano de 2009, reflexo do declínio da produção econômica mundial com consequente diminuição das atividades de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I), aumentando fortemente no ano seguinte, os depósitos de patentes, apesar da fraca recuperação econômica (NIKZAD, 2013; WIPO, 2019), coincidindo com os resultados obtidos no presente estudo. A descoberta de novas aplicações tanto na área medicinal, quanto para o desenvolvimento de formulações e produtos cosméticos, pode ser uma hipótese a ser considerada para o aumento expressivo dos depósitos de patentes no ano de 2010, superando anos anteriores.

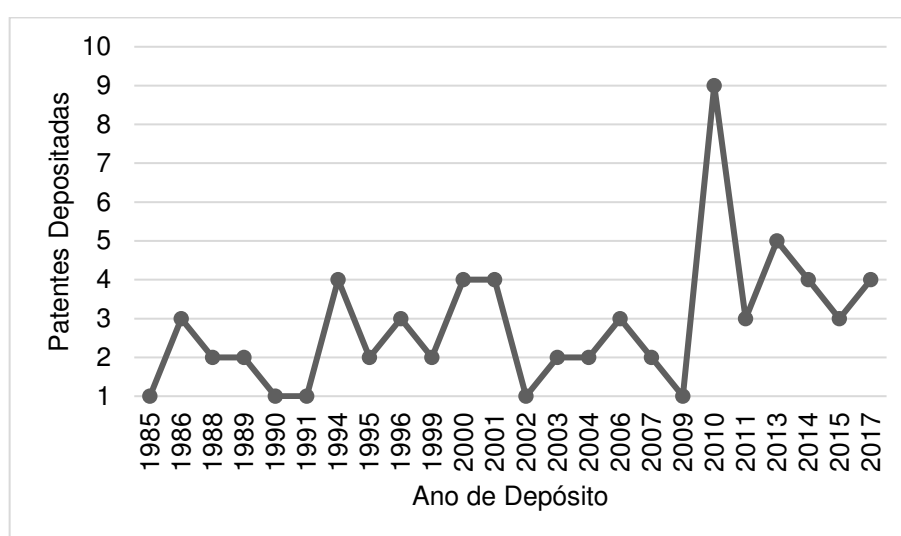


Figura 11. Evolução temporal dos pedidos de patentes depositados relacionados à *P. niruri*.

Quando comparado com os resultados de estudos prospectivos realizados com outras espécies vegetais (MACHADO et al., 2012; DOU; KISTER, 2016), percebe-se que trata-se de um campo da inovação bastante recente, tendo em vista que foram recuperados apenas 68 registros de patentes, sendo a primeira patente relacionada à tecnologia prospectada depositada apenas em 1985, nos Estados Unidos, a qual trata de uma preparação farmacêutica para o tratamento da infecção pelo vírus da hepatite B, obtida a partir dos componentes extraídos da *P. niruri*, cuja titularidade da patente pertence ao centro de pesquisa *Fox Chase Cancer Center* (VENKATESWARAN et al., 1987b). Já no Brasil, a primeira patente só veio a ser depositada em 2006, ou seja, 21 anos depois, cuja titularidade pertence a inventores residentes, onde foi requerida a proteção para a produção de um xarope fitoterápico, para uso veterinário, contendo em sua composição o extrato aquoso de *P. niruri* (SOUSA; SILVA, 2008).

O resultado da busca por artigos na base de periódicos *Web of Science* resultou em um volume de dados maior que o número de patentes, composto por 293 artigos em comparação as 68 patentes recuperadas, no qual constatou-se que a primeira publicação científica ocorreu no ano de 1950, intitulada de “*Beiträge zur Morphologie von Phyllanthus Niruri L.*”, que descreve os aspectos referentes à morfologia vegetal da *P. niruri*, sendo publicada por Bernhard K., na revista científica *Planta* (KAUSSMANN, 1950).

Na Figura 12 é apresentada a quantidade de artigos publicados a cada ano, entre os anos de 1950 e 2018. Através desses dados é perceptível um crescimento substancial no número de artigos a partir de 2004, mantendo uma tendência ao longo dos anos, com uma maior quantidade de publicações nos anos de 2017 e 2018, com 26 artigos publicados, cada. Nos últimos 10 anos, o número de artigos publicados cresceu significativamente, cerca de 120%, quando comparado com o total de publicações no período de 1950 a 2008, indicando que as publicações científicas nos mais diversos campos de aplicações, referentes à *P. niruri*, aumentaram progressivamente.



Figura 12. Evolução anual dos artigos publicados relacionados à *P. niruri*.

Entre todos os documentos analisados, o artigo intitulado “*Effects of an extract from Phyllanthus niruri on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: In vitro and in vivo studies*” apresenta a maioria das citações. O documento publicado no ano de 1987 por Pinayur S. Venkateswaran, Irving Millman e Baruch S. Blumberg, descreve a utilização do extrato aquoso de *P. niruri* na hepatite B e no vírus da hepatite em marmotas (*Marmota monax*), através de modelos *in vitro* e *in vivo* (VENKATESWARAN et al., 1987a). Coincidentemente, tais autores, ambos vinculados ao centro de pesquisa especializado no tratamento e prevenção do câncer *Fox Chase Cancer Center*, são os mesmos inventores da primeira patente depositada relacionada à *P. niruri*, o que indica um interesse desse grupo de pesquisa no desenvolvimento de produções científicas e tecnológicas referentes a esta espécie, visando especialmente o uso dos componentes extraídos da *P. niruri* para o tratamento da hepatite B, objeto de pesquisa científica e de inovação tecnológica. Outra conclusão que se pode tirar a respeito, é o fato de o artigo ter sido publicado dois anos após o depósito da patente, confirmando o fato de que os autores só publicam, mesmo que parcialmente, suas descobertas após patentear as mesmas.

Através de comparação entre os dados estatísticos relacionados aos artigos analisados e os registros de patentes, pode-se inferir que existe uma tendência maior para a publicação de artigos do que para o registro de patentes, porém sem grande discrepância entre o volume total de documentos obtidos nas duas categorias, uma vez que o número de artigos publicados foi apenas, cerca de 5 vezes maior que o número de registros de patentes recuperadas. Ao comparar os dados das Figura 11 e 12, percebe-se que a primeira patente foi depositada no banco de dados de patente da USPTO, 35 anos após o primeiro artigo ter sido registrado na base de periódicos do *Web of Science*.

A análise dos documentos de patentes, quanto ao país de origem do depositante da tecnologia patenteada, demonstrou que as patentes mapeadas foram originárias de 11 países. Destes, os principais países em depósitos de patentes foram o Japão, Estados Unidos e China, como se verifica na Figura 13, na qual fica evidente o domínio de países asiáticos, ao avaliar os depósitos de patentes de acordo com o continente de origem da patente, em que mais da metade dos documentos de patentes analisados tem como titularidade requerentes de patentes asiáticos, cerca de 60%, representados principalmente por Japão e a China. Nota-se que o Brasil apresenta apenas um documento de patente depositado.

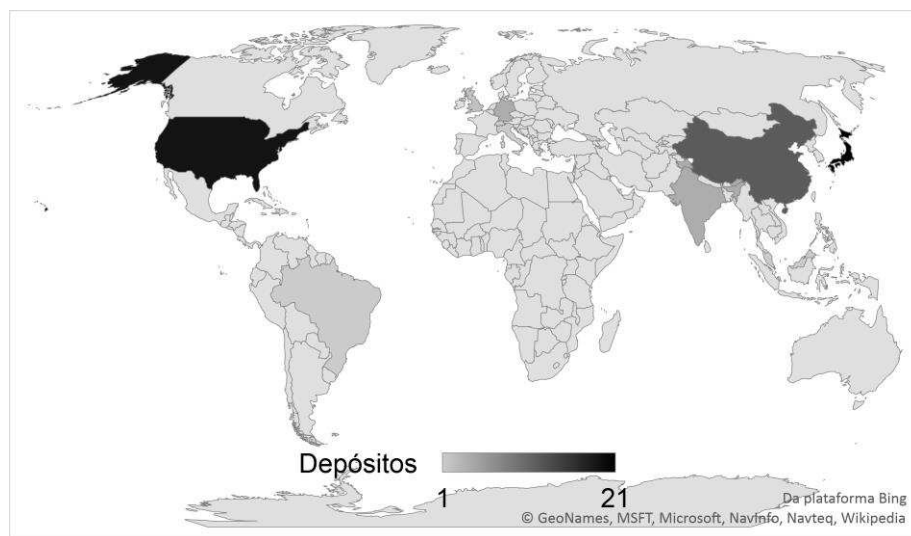


Figura 13. Número de registros de patentes em função dos países de origem dos titulares dos depósitos.

Por outro lado, percebe-se uma mudança de cenário no que diz respeito aos países que mais publicam artigos. Conforme apresentado na Figura 14, de um total de 293 artigos publicados em 50 países, a Índia é o país que mais publica, apresentando um total de 110 artigos, seguido pelo Brasil (51), Malásia (36) e China com 24 artigos publicados. No entanto, ao analisar as publicações por região do globo, percebe-se que ainda há uma prevalência do continente Asiático, representando um total de 65,3% das publicações.

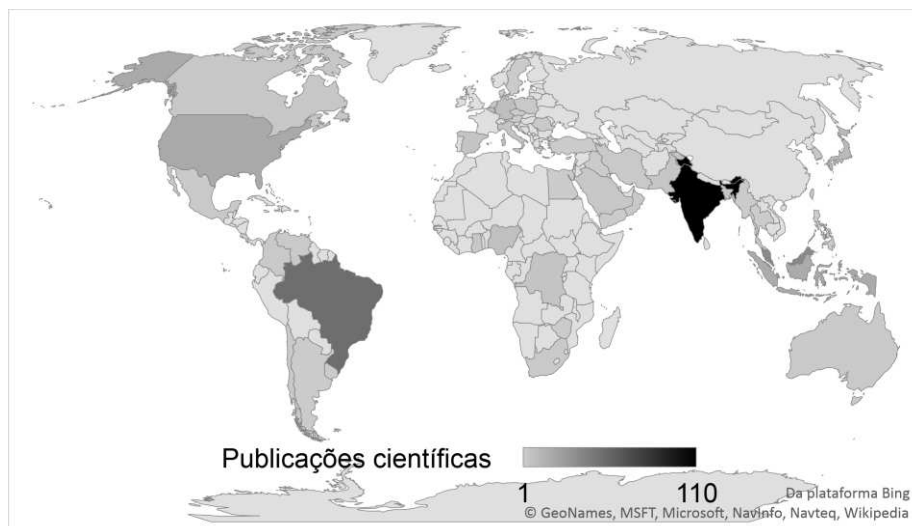


Figura 14. Número de artigos publicados em função dos principais países de origem

Esses resultados se mostram coerentes, pois demonstram que as pesquisas desenvolvidas têm como base a utilização da *P. niruri* na medicina tradicional, que ocorre há muito tempo, principalmente nos países asiáticos, representado principalmente por China e Índia, e na América Latina (especialmente o Brasil).

Quando se explora o ano de publicação do total de registros publicados no Brasil (dados não mostrados), percebe-se que as pesquisas envolvendo a *P. niruri* são bastante recentes, pois além de ter o primeiro artigo publicado apenas em 1994, 60% dos artigos só vieram a ser publicados a partir de 2009, ou seja, nos últimos dez anos, fato que coincide com o período de criação da RENISUS pelo Ministério da Saúde. Tal iniciativa motivou o desenvolvimento de estudos e a pesquisa clínica, elevando conseqüentemente a pesquisa científica no Brasil, para o conjunto de plantas medicinais que compõem a RENISUS (MARMITT et al., 2015), a qual a referida espécie faz parte.

A análise dos principais países de origem dos registros de patentes e publicações, respectivamente Figura 13 e 14, demonstram não haver apenas um país como o maior representante tanto em depósitos de patentes, quanto em publicações de artigos. Isso sugere que os países possuem diferentes interesses relacionados à *P. niruri*, enquanto alguns países estão mais interessados em patentear suas descobertas, outros estão mais focados com a produção e disseminação de conhecimento, através da publicação de artigos.

Apesar de ocupar posição de destaque na produção de artigos científicos, referentes à matriz vegetal prospectada, o Brasil, assim como a Malásia, aparece entre às últimas posições no *ranking* de patentes com apenas um registro, ao contrário de outros países como o Japão e Estados Unidos, que se caracterizam como países que em essência priorizam investir

principalmente no desenvolvimento e inovação de tecnologias relacionadas a esta espécie. Esse reduzido número de pedidos de patentes registrados no Brasil, referente à matriz vegetal prospectada, pode ser reflexo da falta de cultura de inovação, desconhecimento dos trâmites processuais, e principalmente, devido à morosidade na apreciação do pedido de patente junto ao INPI, que pode chegar a ser de 8 a 10 anos (GARCEZ JR; MOREIRA 2017; SANTOS; MONTEIRO, 2018), tendo em vista que a *P. niruri* é uma espécie vegetal de ocorrência e interesse medicinal em todo território brasileiro e alvo de diversas pesquisas científicas, possuindo diversos compostos biologicamente ativos e aplicações em áreas distintas, como a área farmacêutica e de cosméticos

O domínio de países asiáticos no depósito de patentes para esta espécie, tendo o Japão e a China grande destaque com 21 e 11 patentes, respectivamente, é resultado principalmente das políticas de incentivo à proteção da Propriedade Industrial ocorridas nesse continente nos últimos anos, resultando em expressivos índices mundiais de depósitos de patentes para os países asiáticos, como China, Coreia do Sul e Japão, conforme verificado a partir do relatório de dados estatísticos da Organização Mundial de Propriedade Intelectual (WIPO, 2019), na qual grande parte das patentes depositadas por estes países apresentam uma forte relação com recursos financeiros aplicados em PD&I e com o Produto Interno Bruto (PIB), aumentando a capacidade de inovação tecnológica desses países (TOMIOKA et al., 2010; DANG; MOTOHASHI, 2015). Outro ponto a ser levantado, é o fato de que a *P. niruri* é utilizada em importantes sistemas de medicina tradicionais neste continente, como o *Ayurveda* da Índia e na Medicina Tradicional Chinesa, refletindo no incentivo à pesquisa e desenvolvimento de novos produtos para esta espécie.

Ao contrário do ocorrido em outros países, como os referidos países asiáticos, o Brasil só veio adotar tais políticas de incentivo, de forma simplificada e efetiva, nos anos 2000, através da Lei da Inovação nº 10.973 e da Lei do Bem nº 11.196/05 criadas com objetivo de estimular as empresas a desenvolverem no país atividades de PD&I, por meio do fornecimento de incentivos fiscais à pesquisa tecnológica e o desenvolvimento da inovação tecnológica, visando o fortalecimento da inovação tecnológica no país (BRASIL, 2015).

Sabendo que uma mesma patente pode ser depositada em vários países com o objetivo de garantir aos seus inventores o direito de propriedade nos mercados mais relevantes, visto que o direito da patente é territorial (SILVA, et al., 2017), decidiu-se avaliar essas patentes essencialmente idênticas e inter-relacionadas, para quais foi obtido um conjunto de patentes (família de patentes) composto por 168 patentes filhas, ou seja, depósitos de patentes em

diversos países, que não a prioridade unionista (país de origem do pedido original) (SPEZIALI; SINISTERRA, 2015), a partir dos 68 registros de patentes originários.

Ao avaliar a tendência da família de patentes quanto ao país de depósito, em termos de distribuição relativa dos depósitos da família de patentes (Figura 15), observa-se que os depósitos das patentes filhas são maiores nos Estados Unidos com 16%, seguidos por China e Japão com 15 e 14% dos documentos, respectivamente, corroborando com os dados referentes ao número de patentes em função dos países de origem. Países com percentuais inferiores a 2% foram categorizados como outros. Através destes dados percebe-se certa abrangência quanto aos países para os quais a mesma invenção é depositada.

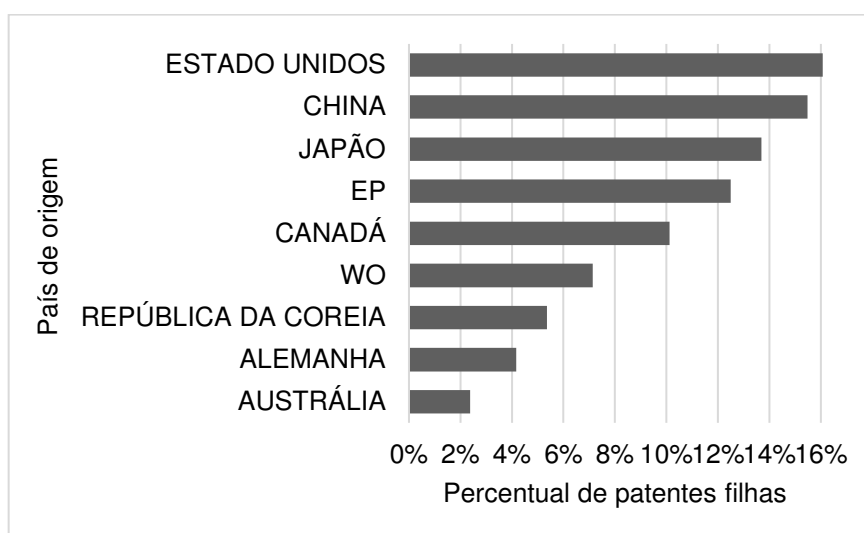


Figura 15. Distribuição relativa da família de patentes. **Legenda:** EP: Organização europeia de patentes; WO: Organização Mundial de Propriedade Intelectual.

Importante ressaltar que os dados da Figura 15 mostram ainda uma distribuição dos depósitos das patentes filhas em países como o Canadá (10%) e Coreia do Sul (5%), que não são países detentores de tecnologias relacionadas à matriz vegetal prospectada, segundo busca nos bancos de dados de patentes, indicando que esses países junto com Estados Unidos, Japão e China, que são países dominantes de tecnologia relacionadas a esta espécie, são os principais países de interesse e onde estão os possíveis mercados para as tecnologias referentes à *P. niruri*. O Brasil, por sua vez, não se caracteriza como um possível mercado vantajoso e relevante para a proteção por países dominantes de tecnologias relacionadas a esta espécie, devido o reduzido número de pedidos de patentes solicitadas por não residentes.

Entre os principais requerentes dos 68 documentos de patentes recuperados, destaca-se a empresa norte-americana, *Johnson & Johnson*, por deter 9 documentos de patentes, seguido pelo instituto de pesquisa norte-americano *Fox Chase Cancer Center*, com 7 registros de

patentes, e pelas duas empresas japonesas, *Shiseido Company* e *Lion Corporation* com 7 e 5 documentos de patentes, respectivamente (Figura 16). Ao todo, 42 instituições, incluindo inventores independentes, depositaram patentes relacionadas a essa matriz. As demais instituições depositantes (empresas, institutos de pesquisas, pessoas física e universidades) representam 50% dos documentos de patentes e apresentam quantidade de depósitos inferior a 2 patentes.

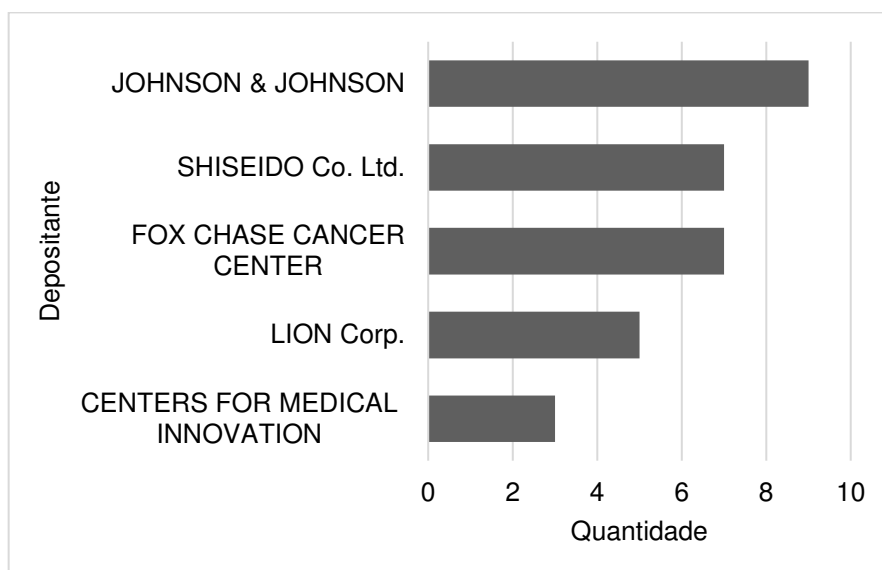


Figura 16. Principais instituições detentoras de patentes relacionadas à *P. niruri*.

Apesar do Japão ser o principal detentor de patentes, representado pelo grande número de depósitos, a empresa que detém o maior número de patentes é a multinacional norte-americana de produtos para a saúde e higiene *Johnson & Johnson*, o que a torna uma liderança no segmento da biotecnologia neste setor. Isso se explica devido à mesma apresentar filiais em diversos países, inclusive no Brasil, e ser uma empresa comprometida com a inovação e o desenvolvimento de produtos farmacêuticos e de higiene.

Analisando as tecnologias desenvolvidas pelos depositantes de patentes, através da CIP, pode-se identificar as tendências das áreas tecnológicas envolvidas com a utilização da *P. niruri*, em que, de acordo com as seções, observou-se, de um ponto de vista macro, que as patentes estão significativamente concentradas na Seção A (Necessidades Humanas), conforme apresentado na Figura 17. No entanto, além da seção A, algumas patentes apresentaram em seu registro, apesar de menos comum, códigos de classificação referentes à Seção C (Química; Metalurgia) e G (Física), indicando o envolvimento de diferentes áreas de aplicação tecnológicas na proteção das patentes. Essa maior distribuição dos códigos de classificação de

patentes na Seção A já era esperado, devido às propriedades biológicas compreenderem o principal campo de aplicação da *P. niruri*, assim como ocorre com outras espécies vegetais.

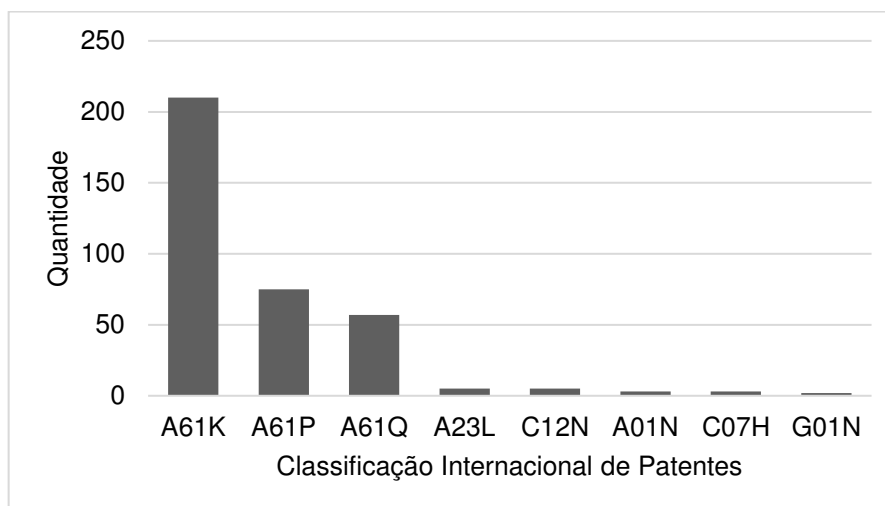


Figura 17. Códigos de Classificação Internacional de Patentes atribuídas as patentes relacionadas à *P. niruri*.

De acordo com a Figura 17, merece destaque a quantidade de códigos de classificação referentes à subclasse A61K, que diz respeito às “preparações para finalidades médicas, odontológicas ou higiênicas”, aparecendo 210 vezes nos documentos de patentes recuperadas, representando 58% dos códigos de classificação exibidos nas patentes analisadas. Em seguida está à classificação A61P (atividade terapêutica específica de compostos químicos ou preparações medicinais) e a subclasse A61Q (uso específico de cosméticos ou preparações similares para higiene pessoal), que correspondem a segunda e terceira maiores ocorrências, com 75 (21%) e 57 (16%) códigos em patentes, respectivamente. Importante ressaltar que algumas patentes apresentam em seu registro mais de um código de classificação.

Expandindo a visualização das subclasses quanto aos grupos, podemos observar através da Figura 18, considerando apenas as quinze principais classificações, que o código de classificação mais relevante é A61K 36 que se refere a “preparações medicinais contendo materiais de constituição indeterminadas derivados de algas, líquens, fungos ou plantas, ou derivados dos mesmos, por exemplo, medicamentos tradicionais à base de ervas”, seguido pelo grupo A61K 8 que diz respeito aos “cosméticos ou preparações similares para higiene pessoal” e o grupo A61Q 19 que trata de “preparações para tratamento da pele”.

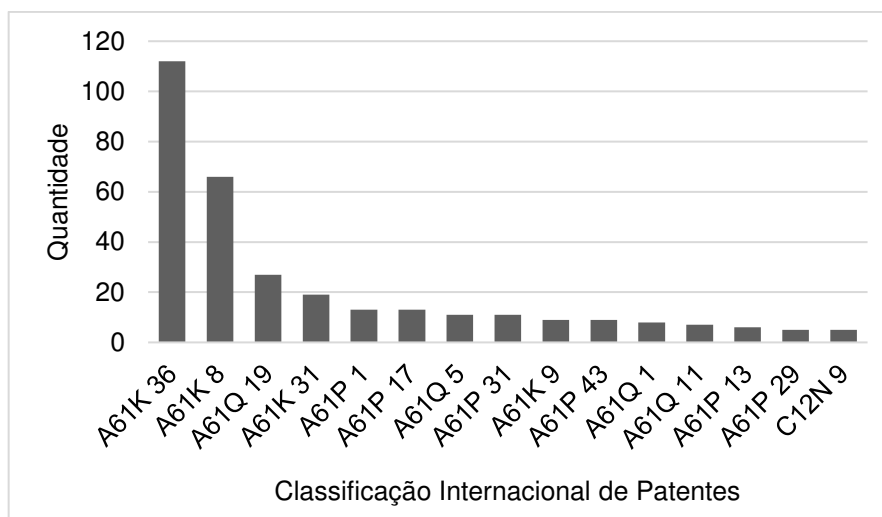


Figura 18. Principais códigos de classificação atribuídas as patentes relacionadas à *P. niruri* – expansão das subclasses em grupos principais

Entre todos os códigos de classificação, o CIP mais empregado nos documentos de patentes foi o A61K 36/47 (29 patentes), totalizando aproximadamente 37% das patentes estudadas, que se refere às “preparações medicinais contendo materiais de constituição indeterminadas derivados de plantas da família Euphorbiaceae”. Contudo, importante ressaltar que a espécie *P. niruri*, citada nos documentos de patentes como pertencente à família Euphorbiaceae, atualmente é reconhecida como pertencente à família Phylanthaceae, de acordo com a Lista de Espécies da Flora do Brasil (SECCO et al., 2015), *The Plant List* (THE PLANT LIST, 2018) e *Tropicos*[®] (TROPICOS, 2018), importantes referências reconhecidas internacionalmente. Também merece destaque a concentração de documentos no subgrupo A61K 8/97, presente em 22 patentes, e que diz respeito aos “cosméticos ou preparações similares para higiene pessoal contendo materiais de constituição desconhecida derivados de algas, líquens, fungos ou plantas; derivados dos mesmos”.

Nos últimos anos as pesquisas referentes à espécie em questão, têm sido voltadas não só para aplicação medicinal, mas também para o desenvolvimento e inovação de formulações e produtos cosméticos, a citar as seguintes patentes: produção de uma fração de baixo peso molecular, útil para tratar os sinais de envelhecimento da pele (GARAY et al., 2014); invenção de uma composição para tratar sinais de envelhecimento da pele (KAUR et al., 2016); e a invenção de um creme dental e seu método de preparação (YONG, 2015). Já no campo da medicina, atualmente destacam-se patentes de invenção como, preparação de uma formulação da medicina tradicional chinesa para o tratamento da hepatite B (TONGYONG, 2015); invenção de uma formulação para tratamento da alopecia androgenética (queda de cabelo)

(MEENA, 2015); invenção de um colutório antibacteriano (JINQIANG, 2017) e um método para aumentar os compostos bioativos da *P. niruri* (INDU BALA; CHANDRADEVAN, 2017).

Estes resultados demonstram a ampla gama de aplicações da *P. niruri*, em que fica evidente que as principais aplicações compreendem seu uso como ingrediente ativo orgânico em medicamentos, em preparações cosméticas para o tratamento da pele e em produtos para higiene pessoal.

Quanto às áreas de conhecimento dos artigos, através da Figura 19, podemos observar que os registros analisados abrangem principalmente as áreas de Farmacologia/Farmácia, com 103 publicações, o que representa 23% do total. Em seguida, as áreas de Química (59) e Ciências de Plantas (58) destacam-se por abranger 11%, cada, dos artigos publicados. Importante ressaltar que os artigos assim como as patentes podem ser classificados em mais de uma área de conhecimento. Ao todo foram identificados 49 campos de conhecimento para os artigos analisados, indicando o caráter disperso dos estudos. As áreas de conhecimento com até 13 artigos publicados, indicadas na Figura 19, representam 74% das publicações.

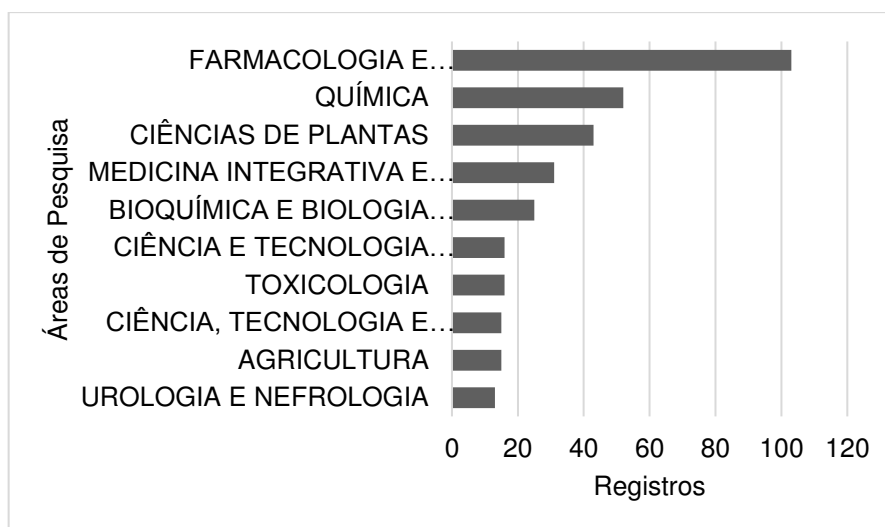


Figura 19. Principais áreas de conhecimento dos artigos analisados, segundo a base *Web of Science*.

Enquanto as patentes estão mais concentradas nos campos da Ciência Médica e da Cosmetologia, os artigos, por sua vez, se apresentam mais dispersos, porém concentrados nas áreas de Farmacologia/Farmácia; Química; Ciências de Plantas; Medicina Integrativa e Complementar; e Bioquímica/Biologia Molecular. Se comparadas as principais áreas de publicação dos artigos com as áreas de concentração em que as patentes são classificadas, percebe-se a existência de certa correlação entre os campos nos quais a produção tecnológica é classificada e as principais áreas de concentração da produção científica, no qual o maior

percentual de depósitos de patentes e de publicações científicas relacionadas à *P. niruri* contemplam seu emprego como medicinal, que é resultado das diversas propriedades biológicas apresentadas por esta planta, que são provenientes de seus compostos químicos ativos.

Vários compostos biologicamente importantes têm sido identificados nas partes constituintes da *P. niruri*, algumas classes desses metabólitos secundários incluem: antraquinonas agliconas e glicosídicas, flavonoides, terpenóides, naftoquinonas, saponinas, carboidratos, esteroides, taninos, alcaloides, ligninas, lignanas, cumarinas e cumarinas glicosídicas (GIRIBABU et al., 2014; MOSTOFA et al., 2017; AL ZARZOUR et al., 2017). Entre as diferentes classes químicas presentes na planta, destacam-se os compostos: *D-Norpseudoefedrina*, alcaloide com ação antiurolítica (PATIL et al., 2017); *Corilagina*, tanino com atividade antitumoral e antiulcerogênica gástrica (ZHENG et al., 2016; KLEIN-JÚNIOR et al., 2017); *Isocorilagina*, tanino com atividade antiacetilcolinesterase e antibutirilcolinesterase (KOAY et al., 2014); e as lignanas, *Nirtretalina A*, *Nirtretalina B* e *Nirantina* que exibiram atividade antiviral, *in vitro* e *in vivo*, contra o vírus da hepatite B (WEI et al., 2012; LIU et al., 2014). Cabe salientar que estes quatro componentes presentes na *P. niruri* são promissores do ponto de vista fármaco-tecnológico, em especial para o desenvolvimento e inovação de novos fármacos e medicamentos.

Por fim, ao analisar os dados das Figura 17 e 19, percebe-se que a área de conhecimento da Ciência e Tecnologia de Alimentos, conforme a disposição da CIP por quantidade de documentos de patentes e os artigos publicados, compreende uma área de pouca investigação científica e aplicação tecnológica envolvendo essa matriz vegetal. A baixa aplicação tecnológica é demonstrada pela reduzida frequência de depósitos de patentes exibindo códigos de classificação referente à subclasse A23L, que diz respeito aos “Alimentos, produtos alimentícios ou bebidas não-alcóolicas, não abrangidos por outras classes; seu preparo ou tratamento, p. ex. cozimento, modificação das qualidades nutritivas, tratamento físico; conservação de alimentos ou produtos alimentícios, em geral”, indicando que a área de tecnologia de alimentos pode ser um campo de aplicação bastante promissor para a *P. niruri*, principalmente do ponto de vista tecnológico, envolvendo o desenvolvimento de produtos ou processos inovadores relacionados a este campo tecnológico, visando a proteção de patentes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com as informações contidas nas patentes, foi possível concluir que a maioria dos pedidos foram realizados por empresas, na qual a empresa norte-americana *Johnson &*

Johnson se caracteriza como a principal detentora, apesar de mais da metade dos registros serem de titularidade de países do continente asiático. Como demonstrado, este estudo evidencia ainda a existência de um desnivelamento entre as produções científica e tecnológica, acerca da *P. niruri*, que ocorre, em parte, devido à elevada tendência para a publicação de artigos.

Os resultados desse estudo prospectivo evidenciaram que tanto os registros de patente como os artigos foram mais frequentemente em áreas relacionadas a Farmácia e Farmacologia, sendo as patentes, especificamente, bastante explorada tecnologicamente em preparações medicinais e na cosmetologia, visando o desenvolvimento de produtos ou processos inovadores relacionados a estes campos tecnológicos.

Por fim, em relação ao panorama nacional, embora nos últimos anos a proteção por produtos e processos envolvendo a *P. niruri* tenham aumentando e a matriz vegetal prospectada seja de importante interesse medicinal, o Brasil possui apenas uma patente registrada, demonstrando a baixa participação do país na proteção de produtos e processos envolvendo sua rica biodiversidade. Para que o país amplie o número de patentes registradas é necessário a criação de estratégias ou até mesmo à ampliação de políticas públicas efetivas que estimulem o aumento da cooperação entre as instituições de ensino superior e o setor empresarial, direcionando o apoio não só a campos tecnológicos já consolidados, mas também a áreas de conhecimento percebidas como importantes e promissoras, agregando ainda mais valor à *P. niruri*, aumentando assim a produção tecnológica nos mais distintos campos tecnológicos.

REFERÊNCIAS

- AL ZARZOUR, R. H.; AHMAD, M.; ASMAWI, M. Z.; KAUR, G.; SAEED, M. A. A.; AL-MANSOUB, M. A.; SAGHIR, S. A. M.; USMAN, N. S.; AL-DULAIMI, D. W.; YAM, M. F. *Phyllanthus niruri* Standardized Extract Alleviates the Progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Decreases Atherosclerotic Risk in Sprague-Dawley Rats. **Nutrients**, v. 9, n. 766, p. 1-19, 2017. doi: 10.3390/nu9070766.
- AMPARO, K. K. S.; RIBEIRO, M. C. O.; GUARIEIRO, L. L. N. Estudo de caso utilizando mapeamento de prospecção tecnológica como principal ferramenta de busca científica. **Perspectivas em Ciência da Informação**, v. 17, n. 4, p. 195-209, 2012. doi: 10.1590/S1413-99362012000400012.
- ASCHE, G. “80% of technical information found only in patents” - Is there proof of this [1]? **World Patent Information**, v. 48, n. 1, p. 16-28, 2017. doi: 10.1016/j.wpi.2016.11.004.
- BRAGA, E. J.; SOUZA, A. R.; SOARES, P. L. L.; RODRIGUES, R. C. The role of specification in patent applications: A comparative study on sufficiency of disclosure. **World Patent Information**, v. 53, p. 58–65, 2018. doi: 10.1016/j.wpi.2018.05.008.
- BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações – MCTIC. **Relatório anual de atividades de P&D, utilização dos incentivos fiscais à inovação tecnológica**, Ano-base 2014, Brasília, DF, 2015. Disponível em: <http://www.mctic.gov.br/mctic/export/sites/institucional/arquivos/veja_tambem-lei_bem/Relatorio-Anual-Lei-11.196-05-Ano-Base-2014-Retificado.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2019.
- BREGONJE, M. Patents: A unique source for scientific technical information in chemistry related industry. **World Patent Information**, v. 27, n. 4, p. 309-315, 2005. doi:10.1016/j.wpi.2005.05.003.
- CAPES. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. **Portal de Periódicos Capes/MEC**. 2019. Disponível em: <https://www.periodicos.capes.gov.br/?option=com_pcollection&mn=70&smn=79&cid=81>. Acesso em 12 jul. 2019.
- DANG, J.; MOTOHASHI, K. Patent statistics: A good indicator for innovation in China? Patent subsidy program impacts on patent quality. **China Economic Review**, v. 35, p. 137-155, 2015. doi: 10.1016/j.chieco.2015.03.012.
- DOU, H.; KISTER, J. Research and development on *Moringa Oleifera* – Comparison between academic research and patents. **World Patent Information**, v. 47, p. 21-33, 2016. doi: 10.1016/j.wpi.2016.09.001.
- GARAY, M.; KAUR, S.; SOUTHALL, M.; WEN, P. Johnson & Johnson Consumer Companies, Inc. **Extracts of *Phyllanthus niruri***. US n. PI 8,916,209 B2, 7 abr. 2011, 23 dez. 2014.

GARCEZ JR., S. S.; MOREIRA, J. J. S. O backlog de patentes no Brasil: o direito à razoável duração do procedimento administrativo. **Revista Direito GV**, v. 13, n. 1, p. 171-203, 2017. doi: 10.1590/2317-6172201708.

GIRIBABU, N.; RAO, P. V.; KUMAR, K. P.; MUNIANDY, S.; REKHA, S. S.; SALLEH, N. Aqueous extract of *Phyllanthus niruri* leaves displays *in vitro* antioxidant activity and prevents the elevation of oxidative stress in the kidney of streptozotocin-induced diabetic male rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, p. 1-10, 2014. doi: 10.1155/2014/834815.

INDU BALA, J.; CHANDRADEVAN M. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia. **Method for increasing bioactive compounds in *Phyllanthus* species**. MY n. PI 162683 (A), 23 dez. 2011, 14 jul. 2017.

JANNUZZI, A. H. L.; VASCONCELLOS, A. G. Quanto custa o atraso na concessão de patentes de medicamentos para a saúde no Brasil? **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 8, p. 1-6, 2017. doi:10.1590/0102-311x00206516.

JINQIANG, W. **Antibacterial mouthwash**. CN n. PI 107296774 (A), 21 ago. 2017, 27 out. 2017.

JUNGMANN, D. M.; BONETTI, E. A. **A caminho da inovação: proteção e negócios com bens de propriedade intelectual: guia para o empresário**. Brasília: IEL, 2010, 125 p.

KAUR, N.; KAUR, B.; SIRHINDI, G. Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus niruri* L.: A Review. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 7, p. 980-1004, 2017. doi: 10.1002/ptr.5825.

KAUR, S.; SOUTHALL, M.; TUCKER-SAMARAS, S. Johnson & Johnson Consumer Companies, Inc. **Composiciones que comprenden un inhibidor de NFκB y un promotor de tropoelastina**. ES n. PI 2598153, 01 out. 2010, 20 jul. 2016.

KAUSSMANN, B. Beiträge zur Morphologie von *Phyllanthus niruri* L. **Planta**, v. 38, n. 5, p. 586–590, 1950.

KIM, J.; LEE, S. Patent databases for innovation studies: A comparative analysis of USPTO, EPO, JPO and KIPO. **Technological Forecasting & Social Change**, v. 92, p. 332–345, 2015. doi: 10.1016/j.techfore.2015.01.009.

KLEIN-JÚNIOR, L. C.; DA SILVA, L. M.; BOEING, T.; SOMENSI, L. B.; BEBER, A. P.; ROCHA, J. A.; HENRIQUES, A. T.; ANDRADE, S. F.; CECHINEL-FILHO, V. The Protective Potential of *Phyllanthus niruri* and Corilagin on Gastric Lesions Induced in Rodents by Different Harmful Agents. **Planta Medica**, v. 83, n. 1, p. 30-39, 2017. doi: 10.1055/s-0042-107356.

KOAY, Y. H.; BASIRI, A.; MURUGAIYAH, V.; CHAN, K. L. Isocorilagin, a Cholinesterase Inhibitor from *Phyllanthus niruri*. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 4, p. 515-517, 2014.

LEE, C.; JEON, J.; PARK, Y. Monitoring trends of technological changes based on the dynamic patent lattice: A modified formal concept analysis approach. **Technological Forecasting & Social Change**, v. 78, n. 4, p. 690-702, 2011. doi: 10.1016/j.techfore.2010.11.010.

LEE, N. Y. S.; KHOO, W. K. S.; ADNAN, M. A.; MAHALINGAM, T. P.; FERNANDEZ, A. R.; JEEVARATNAM, K. The pharmacological potential of *Phyllanthus niruri*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 8, p. 953–969, 2016. doi: 10.1111/jphp.12565.

LIU, S.; WEI, W.; LI, Y.; LIN, X.; SHI, K.; CAO, X.; ZHOU, M. *In vitro* and *in vivo* anti-hepatitis B virus activities of the lignin nirtetralin B isolated from *Phyllanthus niruri* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, p. 62–68, 2014. doi: 10.1016/j.jep.2014.09.019.

MACHADO, B. A. S.; CRUZ, L. C.; NUNES, S. B.; GUEZ, M. A. U.; PADILHA, F. F. Estudo prospectivo da própolis e tecnologias correlatas sob o enfoque em documentos de patentes depositados no Brasil. **Revista GEINTEC: Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 2, n. 3, p. 221-235, 2012. doi: 10.7198/geintec.v2i3.45.

MAO, X.; WU, L. F.; GUO, H. L.; CHEN, W. J.; CUI, Y. P.; QI, Q.; LI, S.; LIANG, W. Y.; YANG, G. H.; SHAO, Y. Y.; ZHU, D.; SHE, G. M.; YOU, Y.; ZHANG, L. Z. The Genus *Phyllanthus*: An Ethnopharmacological, Phytochemical, and Pharmacological Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, p. 1-36, 2016. doi: 10.1155/2016/7584952.

MARMITT, D. J.; REMPEL, C.; GOETTERT, M. I.; SILVA, A. C. Plantas Mediciniais da RENISUS Com Potencial Antiinflamatório: Revisão Sistemática Em Três Bases de Dados Científicas. **Revista Fitos**, v. 9, n. 2, p. 129-144, 2015. doi: 10.5935/2446-4775.20150011.

MEDIANI, A.; ABAS, F.; MAULIDIANI, M.; KHATIB, A.; TAN, C. P.; ISMAIL, I. S.; SHAARI, K.; ISMAIL, A. Characterization of Metabolite Profile in *Phyllanthus niruri* and Correlation with Bioactivity Elucidated by Nuclear Magnetic Resonance Based Metabolomics. **Molecules**, v. 22, n. 6, p. 1-14, 2017. doi: 10.3390/molecules22060902.

MEENA, R. **Herbal formulation for treatment of hair fall**. IN n. PI 1178CH2013 (A), 19 mar. 2013, 28 ago. 2015.

MOSTOFA, R.; AHMED, S.; BEGUM, M. M.; RAHMAN, M. S.; BEGUM, T.; AHMED, S. U.; TUHIN, R. H.; DAS, M.; HOSSAIN, A.; SHARMA, M.; BEGUM, R. Evaluation of anti-inflammatory and gastric anti-ulcer activity of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) leaves in experimental rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2017. doi: 10.1186/s12906-017-1771-7.

NAGAOKA, S.; MOTOHASHI, K.; GOTO, A. Patent statistics as an innovation indicator. In: HALL, B. H.; ROSENBERG, N. editors. **Handbook of the economics of innovation**, v. 2. Amsterdam: Elsevier; 2010. p. 1083-127. doi.org/10.1016/S0169-7218(10)02009-5

NIKZAD, R. Canadian patent profile: Some explorations in patent statistics. **World Patent Information**, v. 35, n. 3, p. 201-208, 2013. doi: 10.1016/j.wpi.2013.03.001.

- PAITHANKAR, V. V.; RAUT, K. S.; CHARDE, R. M.; VYAS, J. V. *Phyllanthus Niruri*: A magic Herb. **Research in Pharmacy**, v. 1, n. 4, p.1-9, 2011.
- PATIL, A. S.; PAIKRAO, H. M.; KALE, A. S.; MANIK, S. R. A TLC-Direct bioautography method for detection of antiurolithiatic metabolites. **Journal of Chromatographic Science**, v. 55, n. 5, p. 571–577, 2017. doi: 10.1093/chromsci/bmx002.
- PEREIRA, F. C.; COSTA, H. G.; PEREIRA, V. Patent filings versus articles published: A review of the literature in the context of Multicriteria Decision Aid. **World Patent Information**, v. 50 p. 17-26, 2017. doi: 10.1016/j.wpi.2017.07.003.
- PIMENTA, F. P. A patente como fonte de informação (des)necessária para a Biotecnologia em Saúde. **TransInformação**, v. 29, n. 3, p. 323-332, 2017. doi: 10.1590/2318-08892017000300009
- REYMOND, D.; QUONIAM, L. A new patent processing suite for academic and research purposes. **World Patent Information**, v. 47, p. 40-50, 2016. doi: 10.1016/j.wpi.2016.10.001.
- ROCHA, A. P. T.; LISBOA, H. M.; ALSINA, O. L. S.; SILVA, O. S. Coating Process of *Phyllanthus niruri* Linn Granules Using Spouted Bed. **Powder Technology**, v. 336, p. 85-91, 2018. doi: 10.1016/j.powtec.2018.05.052.
- SANTOS, J. W.; MONTEIRO L. F. Prospecção tecnológica sobre acessórios para a estabilização da coluna lombar durante o transporte manual de cargas. **Revista Brasileira de Gestão e Inovação**, v. 5, n.3, p. 172-194, 2018. doi: 10.18226/23190639.v5n3.08a.
- SANTOS, V. S. V.; ARANTES, K. M.; GONÇALVES, E. L.; CAMPOS, C. F.; CAMPOS JÚNIOR, E. O.; OLIVEIRA, A. M. M.; PEREIRA, B. B. Contamination of soil and the medicinal plant *Phyllanthus niruri* Linn. with cadmium in ceramic industrial areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 190, n. 5, p. 1-7, 2018. doi: 10.1007/s10661-018-6693-4.
- SECCO, R.; CORDEIRO, I.; MARTINS, E. R.; ZAPPI, D. 2015. Phyllanthaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB24168>>. Acesso em: 08 jun. 2018.
- SILVA, I. R. C.; CARDOSO, R. C. V.; FURTUNATO, D. M. N.; GÓES, J. A. W.; SILVA, A. R. C.; SANTOS, I. O. Estudo prospectivo da utilização de alimentos extrusados enriquecidos com microalgas: uma contribuição sobre a potencialidade desta tecnologia. **Revista GEINTEC: Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 7, n. 3, p. 4112-4122, 2017. doi: 10.7198/geintec.v7.i4.1250.
- SOUSA, J. E.; SILVA, S. M. M. **Produção de um medicamento fitoterápico para animais e posterior para humanos**. BR n. PI 0604885-4 A, 20 jun. 2006, 19 fev. 2008.
- SPEZIALI, M. G.; SINISTERRA, R. D. Buscas de informações tecnológicas com base em dados de patentes: estudo de caso dos Líquidos iônicos no Brasil. **Química Nova**, v. 38, n. 8, p. 1132-1138, 2015. doi: 10.5935/0100-4042.20150126.

THE PLANT LIST. Version 1.1. *Phyllanthus niruri* L. 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 13 out. 2018.

TOMIOKA, J.; LOURENÇO, S. R.; FACÓ, J. F. B. Patentes em nanotecnologia: prospecção tecnológica para tomada de decisão. **INGEPRO – Inovação, Gestão e Produção**. v. 2, n. 10, p. 1-12, 2010.

TONGYONG, Z. Xining Yige Intellectual Property Consulting Service Co., Ltd. **Traditional Chinese medicine composition for treating hepatitis B and preparation method thereof**. CN n. PI 104474401 (A), 03 dez. 2014, 01 abr. 2015.

TROPICOS. Missouri Botanical Garden. *Phyllanthus niruri* L. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/>>. Acesso em: 13 out. 2018.

VAN RAAN, A. F. J. Patent Citations Analysis and Its Value in Research Evaluation: A Review and a New Approach to Map Technology-relevant Research. **Journal of Data and Information Science**, v. 2, n. 1, p. 13-50, 2017. doi: 10.1515/jdis-2017-0002.

VENKATESWARAN, P. S.; MILLMAN, I.; BLUMBERG, B. S. Effects of an extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: *In vitro* and *in vivo* studies. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**. v. 84, n. 1, p. 274-278, 1987a.

VENKATESWARAN, P. S.; MILLMAN, I.; BLUMBERG, B. S. Fox Chase Cancer Center. **Composition, pharmaceutical preparation and method for treating viral, hepatitis**. US n. PI 4673575, 26 abr. 1985, 16 jun. 1987b.

WEI, W.; LI, X.; WANG, K.; ZHENG, Z.; ZHOU, M. Lignans with anti-hepatitis B virus activities from *Phyllanthus niruri* L. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 7, p. 964-968, 2012. doi: 10.1002/ptr.3663.

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION (WIPO). WIPO IP Statistics Data Center, **WIPO statistics database base**. Maio 2019. Disponível em: <<https://www3.wipo.int/ipstats/index.htm?tab=patent>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

XIE, Z.; MIYAZAKI, K. Evaluating the effectiveness of keyword search strategy for patent identification. **World Patent Information**, v. 35, n. 1, p. 20-30, 2013. doi: 10.1016/j.wpi.2012.10.005.

YONG, W. **Chinese herbal medicine toothpaste and preparation method**. CN n. PI 104873416 (A), 12 maio 2015, 02 set. 2015.

ZHENG, Z. Z.; CHEN, L. H.; LIU, S. S.; DENG, Y.; ZHENG, G. H.; GU, Y.; MING, Y. L. Bioguided Fraction and Isolation of the Antitumor Components from *Phyllanthus niruri* L. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1-7, 2016. doi: 10.1155/2016/9729275.