

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, ALIMENTO E NUTRIÇÃO

ANNA JÚLIA PAPA DE ARAUJO

**EFEITO DA FRAÇÃO HEXANO DAS FOLHAS DE *Selaginella sellowii* Hieron
SOBRE A HEMOSTASIA HUMANA**

CAMPO GRANDE - MS

2025

ANNA JÚLIA PAPA DE ARAUJO

**EFEITO DA FRAÇÃO HEXANO DAS FOLHAS DE *Selaginella sellowii* Hieron
SOBRE A HEMOSTASIA HUMANA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Farmácia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição - FAFAN, da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul -
UFMS, como requisito parcial para a obtenção do
Título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Benedetti Parisotto

CAMPO GRANDE - MS
2025

ANNA JÚLIA PAPA DE ARAUJO

**EFEITO DA FRAÇÃO HEXANO DAS FOLHAS DE *Selaginella sellowii* HIERON
SOBRE A HEMOSTASIA HUMANA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Farmácia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, Alimentos e Nutrição - FAFAN, da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul -
UFMS, como requisito parcial para a obtenção do
Título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Benedetti Parisotto

Campo Grande, 5 de novembro de 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Benedetti Parisotto – UFMS – Presidente
Prof. Dra. Simone Schneider Webber - UFMS - Titular
Dra. Kelly Juliana Filippin - UFMS - Titular
Dra. Bianca Rodrigues Acácio - UFMS - Suplente

AGRADECIMENTOS

O trabalho de conclusão de curso aqui apresentado representa o fim de uma etapa muito sonhada, mas que para além de mim mobilizou, também, muitas pessoas que são e se tornaram muito importantes em minha trajetória. Por isso, expresso aqui meus sinceros agradecimentos.

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem a força da fé eu não teria chegado até aqui e talvez teria caído, sem me reerguer, diante das dificuldades da vida. Aqui também agradeço àqueles que me cuidaram, me educaram e deram tudo de si, todos os dias nesses últimos 23 anos para que eu pudesse aproveitar as melhores oportunidades, obrigada Elisângela e Euler por serem excelentes pais.

Agradeço ainda às mulheres que me acompanharam no meu crescer e foram exemplos impecáveis de força, disciplina, coragem e independência, às minhas madrinhas Elizandra, Kelly, Vera, Maria José e minha falecida avó Antônia Dalva, minha eterna gratidão.

Gratidão a quem deixou a caminhada mais leve, meus irmãos de coração Guilherme, Clara, Bárbara e Eduarda, vocês são os pés que caminham ao lado, os ouvidos que escutam e quem faz a vida leve, obrigada por uma vida inteira de amizade e cumplicidade.

Aproveito também a oportunidade para fazer um agradecimento especial ao Davi, meu namorado e sua família, por terem chegado a pouco tempo, mas feito uma enorme diferença do meu dia a dia, diferença de amor, apoio, resgate, se tornando também minha família todos os dias. Vocês são presentes para mim.

Neste ciclo de faculdade, ainda estiveram comigo meus amigos de turma, o grupo “toma”, a quem devo não somente carinho e consideração, mas também o “estender das mãos” para que eles tenham força nas jornadas, como eu tive, afinal, “toma” é realmente para darmos auxílio uns aos outros.

Sou muito grata à professora doutora Denise Brentan e ao laboratório de Produtos Naturais e Espectroscopia de Massas (LAPNEM) da UFMS por disponibilizar o extrato de hexano das folhas de *Selaginella sellowii* Hieron para este

estudo, sua contribuição foi fundamental para a conclusão deste processo acadêmico, bem como o fomento da UFMS, CNPq, FUNDECT e PET Farmácia ao longo da minha graduação.

Por fim, mas não menos importante, agradeço ao meu orientador Eduardo Benedetti Parisotto, pois me acompanhou desde o início da minha faculdade até o presente trabalho com admirável orientação. Aproveito o ensejo para agradecer a equipe do laboratório de pesquisa em hematologia clínica em especial a minha gratidão a minha prima Liliane e à Isabelly, atual doutoranda do laboratório, eu aprendi muito com cada um de vocês.

Além desses, para não ser injusta, deixo registrado meu agradecimento a todos os envolvidos neste trabalho, direta ou indiretamente. A contribuição de cada um se torna aqui, minha aprovação e uma porta aberta para o título, tão desejado, de Farmacêutica!

RESUMO

A espécie *Selaginella sellowii* Hieron é uma licófita, da família selaginellaceae, também presente no centro-oeste brasileiro, que possui elevada capacidade de adaptação, além de significativa presença de metabólitos secundários em seus extratos, como por exemplo biflavonóides e flavonóides, que possuem ação antioxidante. Existem relatos sobre o uso deste como agente anti-hemorrágico entre outros usos populares, bem como, estudos com outras espécies de selaginella quanto a sua atividade hemostática e, dessa forma, torna-se interessante analisar a fração hexano do extrato das folhas da *S. sellowii* sobre a hemostasia humana, visto que um desequilíbrio dessa pode causar a formação de trombos ou hemorragias, com obstrução de artérias e veias, complicações fatais como infarto agudo do miocárdio, tromboembolismo pulmonar e acidente vascular cerebral. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da fração hexânica do extrato de *S. sellowii* sobre a hemostasia humana. Dessa forma, utilizou-se plasma humano, coletado de voluntários adultos saudáveis (ambos os sexos) com aprovação do comitê de ética. Primeiramente, realizou-se o ensaio de toxicidade *in vitro* com azul de trypan, avaliando concentrações de 50 a 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em diluição seriada; em seguida, utilizando apenas as concentrações 50, 200 e 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$, foram feitos ensaios de agregação plaquetária e coagulação sanguínea por turbidimetria, e capacidade de ativação plaquetária por fluorimetria (medida da geração de espécies reativas de oxigênio – EROs). Os dados foram analisados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), juntamente com o Teste de Tukey-Kramer, com significância menor que 0,05. Observou-se segurança do extrato frente a plaquetas humanas, uma vez que a viabilidade plaquetária manteve-se superior à 80% em todas as concentrações testadas. Houve redução da agregação plaquetária de 14%, 18% e 22% nas concentrações de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente e o extrato não alterou os parâmetros de coagulação em nenhuma das concentrações testadas, mas também não reduziu significativamente a produção de ERO's nas concentrações analisadas com 10min de incubação. Portanto, o extrato de hexano das folhas de *S. sellowii* apresentou potencial ação antiplaquetária. A partir disso, almeja-se aprofundar as pesquisas com o extrato de hexano em questão, a fim de compreender seu mecanismo de ação no organismo humano.

Palavras-chaves: Plaquetas; ativação, agregação, espécies reativas de oxigênio; hemostasia.

ABSTRACT

The species *Selaginella sellowii* Hieron is a lycophyte belonging to the family *Selaginellaceae*, also found in the Brazilian Midwest, characterized by a high adaptive capacity and a significant presence of secondary metabolites in its extracts, such as biflavonoids and flavonoids, which exhibit antioxidant activity. There are reports of its traditional use as an anti-hemorrhagic agent, among other popular applications, as well as studies involving other *Selaginella* species regarding their hemostatic activity. Therefore, it becomes relevant to investigate the hexane fraction of the *S. sellowii* leaf extract on human hemostasis, considering that imbalances in this process may lead to thrombus formation or hemorrhages, resulting in arterial and venous obstruction and potentially fatal complications such as acute myocardial infarction, pulmonary thromboembolism, and cerebrovascular accident. The objective of this study was to evaluate the effect of the hexane fraction of *S. sellowii* extract on human hemostasis. Human plasma was used, collected from healthy adult volunteers (both sexes) with approval from the ethics committee. Initially, an *in vitro* toxicity assay using trypan blue was performed, evaluating concentrations ranging from 50 to 1000 µg/mL in serial dilution. Subsequently, using only the concentrations of 50, 200, and 800 µg/mL, platelet aggregation and blood coagulation assays were conducted by turbidimetry, as well as platelet activation capacity by fluorimetry (measuring the generation of reactive oxygen species – ROS). Data were statistically analyzed by analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey-Kramer test, with a significance level of $p < 0.05$. The extract demonstrated safety toward human platelets, as platelet viability remained above 80% at all tested concentrations. A reduction in platelet aggregation of 14%, 18%, and 22% was observed at concentrations of 50 µg/mL, 200 µg/mL, and 800 µg/mL, respectively. The extract did not alter coagulation parameters at any of the tested concentrations, nor did it significantly reduce ROS production after 10 minutes of incubation. Therefore, the hexane extract from *S. sellowii* leaves exhibited potential antiplatelet activity. Based on these findings, further research with the hexane extract is warranted to elucidate its mechanism of action in the human organism.

Keywords: Platelets, Activation; Aggregation; Reactive oxygen species; Hemostasis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem das folhas de *Selaginella sellowii* Hieron.

Figura 2 - Distribuição da *S. sellowii* na América Latina e no Brasil.

Figura 3 - Esquema didático da composição majoritária das folhas de *S. sellowii*.

Figura 4 - Fotografia do extrato hexânico das folhas de *S. sellowii* em eppendorf.

Figura 5 - Esquema representativo do processo de hemostasia primária.

Figura 6 - Esquema representativo do processo de hemostasia terciária.

Figura 7 - Viabilidade de plaquetas humanas expostas ao FXSS avaliadas por microscopia óptica.

Figura 8 - Porcentagem de agregação plaquetária em plaquetas humanas expostas ao FXSS em diferentes concentrações medidas por turbidimetria.

Figura 9 - Conteúdo de espécies reativas de oxigênio (ERO's) intraplaquetárias após exposição ao FXSS por 10 min medidas por intensidade de fluorescência.

Figura 10 - Esquema didático da etapa de agregação plaquetária.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) medidos em plasma humano pré-incubado com diferentes concentrações da FXSS.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP - Adenosina difosfato

FvW - Fator de von Willebrad

TXA2 - Tromboxano A2

TP - Tempo de protrombina

t-PA - Plasminogênio tecidual

ERO's - Espécies reativas de oxigênio

AAS - Ácido acetil salicílico

FXSS - Fração hexano do extrato das folhas de *Selaginella sellowii* Hieron

CEP-SH - Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos.

SisGen - Sistema Nacional do Patrimônio Genético

PRP - Plasma rico em plaquetas

DMSO - Dimetilsulfóxido

CN - Controle negativo

TTPa - Tempo de tromboplastina parcial ativada

DCFH-DA - Diclorofluoresceína-diacetato

PPP - Plasma pobre em plaquetas

DP - Desvio padrão

RNI - Razão normalizada internacional

R - Razão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS COM PRODUTOS NATURAIS	14
2.2 <i>Selaginella sellowii</i> Hieron	14
2.3 HEMOSTASIA	18
2.3.1 HEMOSTASIA PRIMÁRIA	19
2.3.2 HEMOSTASIA SECUNDÁRIA	19
2.4 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROS)	21
3. JUSTIFICATIVA	22
4. OBJETIVOS	23
4.1 OBJETIVO GERAL	23
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
5. METODOLOGIA	24
5.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	24
5.2 EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO DAS FOLHAS DE <i>Selaginella sellowii</i> Hieron	24
5.3 COLETA DE AMOSTRAS E ISOLAMENTO DAS PLAQUETAS	24
5.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA	25
5.4.1 Toxicidade <i>in vitro</i> com Azul de trypan	25
5.4.2 Determinação da agregação plaquetária	25
5.4.3 Avaliação da coagulação sanguínea	26
5.4.4 Quantificação conteúdo de ERO's intraplaquetário	26
5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
6. RESULTADOS	27
6.1 VIABILIDADE PLAQUETÁRIA	27
6.2 AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA	28
6.3 EFEITO DA FXSS SOBRE OS PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO	29
6.4 CAPACIDADE DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA	30
7. DISCUSSÃO	32
8. CONCLUSÃO	35
9. PERSPECTIVAS	36

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Selaginella sellowii* Hieron, uma licófita da família das selaginellaceae, natural do pantanal brasileiro (Hirai e Prado, 2000; Reflora, 2023), tem sido alvo de alguns estudos para esclarecimento de efeito anti-leishmania, anticâncer, anti-inflamatório, antioxidante, antiviral, e até anti-hemorrágico devido a relatos de uso tradicional e estudos com outras espécies da mesma família (Bonfim, 2023; Anugrahini *et al.*, 2024).

Através do uso popular e empírico é possível investigar diversas espécies de plantas a fim de avaliar seu potencial terapêutico, o qual se deve ao sinergismo da vasta gama de compostos presentes nas suas estruturas, por isso crescem, continuamente, as pesquisas e desenvolvimento de fármacos advindos de produtos naturais (Marin *et al.*, 2022). Esses estudos são viabilizados e justificados pelo baixo custo e fácil acessibilidade, além da premissa de redução dos efeitos adversos relacionados a fitofármacos quando comparados com medicamentos sintéticos usuais (Albutti *et al.*, 2022).

No entanto, tratando-se de ação sobre a hemostasia, ainda são poucos e recentes os vegetais estudados com comprovação de eficácia. Isso se deve à complexidade do sistema hemostático, visto que esse possui uma grande quantidade de substâncias, enzimas, componentes celulares e imunológicos que interagem entre si e o endotélio (Noris e Galbusera, 2022; Sakurai *et al.*, 2018).

A hemostasia tem a função primordial no organismo humano de manter o equilíbrio corporal, prevenindo hemorragias e tromboses, complicações graves do sangue (Espinoça *et al.*, 2024; Favaloro e Pasalic, 2024). Atualmente, destacam-se no mercado para tratamento de condições hematopoiéticas: o Ferro e quelantes, vitaminas, agentes estimuladores dos eritrócitos e fatores de crescimento, em variadas preparações (Katzung *et al.*, 2015); já entre as plantas medicinais estudadas, destacam-se os extratos contendo alcalóides, quinonas, flavonóides, fenilpropanóides, ácidos graxos, aminoácidos, terpenóides, esteróides, fenóis, taninos, ésteres e polissacarídeos em quantidades significativas (Mu *et al.*, 2023).

Portanto, considerando a letalidade mundial dos distúrbios sanguíneos e vasculares (Dufour-gaume *et al.*, 2023), a existência dos relatos etnobotânicos acerca do *S. sellowii*, a baixa quantidade de estudos em hematologia com plantas nativas do pantanal atrelado a demanda por terapias naturais eficazes, acessíveis e

com menor toxicidade, torna-se relevante investigar esta espécie. Assim, o presente trabalho visou avaliar o efeito do extrato de hexano de *S. sellowii* sobre a hemostasia humana, contribuindo para o conhecimento farmacológico da planta e ampliando as possibilidades terapêuticas baseadas em produtos naturais.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS COM PRODUTOS NATURAIS

O uso de produtos naturais como medicamentos tradicionais, em diversas formas farmacêuticas, é uma prática milenar, visto que há documentos que registram tal prática na Mesopotâmia em 2.600 a.C., por exemplo, de óleos de cipreste e mirra para tosse e inflamações (Dias *et al.*, 2012).

O pantanal e o cerrado brasileiro, que é o segundo maior bioma do Brasil, tornam-se alvos atrativos para pesquisas farmacológicas devido à diversidade indiscutível de recursos biológicos (Carvajal, 2024).

Entretanto, há uma limitação de estudo destas matérias-primas, como por exemplo a sazonalidade, complexidade de extração e instabilidade química, o que torna difícil a padronização e reproduzibilidade do estudo quando não se tem a tecnologia atrelada (Tveden-Nyborg *et al.*, 2024). Por isso, avançam juntamente com as pesquisas medicinais, as técnicas de purificação, a biotecnologia, a genômica, e bioinformática entre outros recursos que unem a bioquímica e a inteligência artificial (Gaudênia *et al.*, 2023).

2.2 *Selaginella sellowii* Hieron

A espécie *Selaginella sellowii* Hieron pertence ao reino plantae, subclasse das licopodiidae e família das selaginellaceae (Reflora, 2023). É uma planta com parentesco com as samambaia, tendo folhas licófitas micrófilas, ou seja, pequenas e pontiagudas, e crescimento rasteiro com caule prostrado em solo rochoso e ressecado (Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025).

Figura 1. Imagem das folhas de *Selaginella sellowii* Hieron

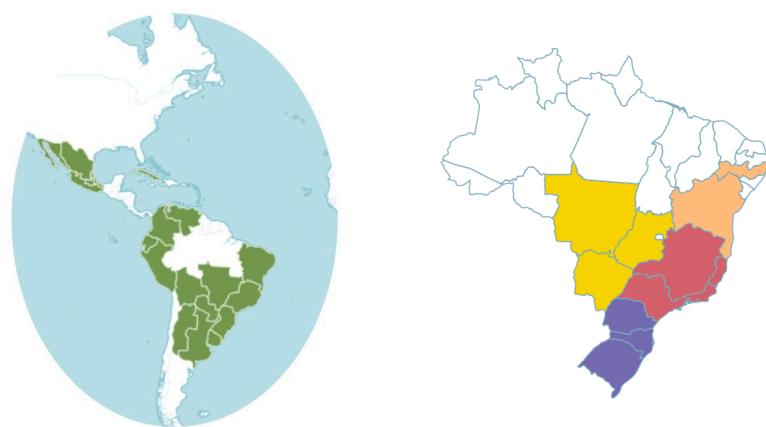


Legenda: A) Folhas de *S. sellowii*; B) Crescimento rasteiro de *S. sellowii*

Fonte: Royal Botanic Gardens, KEW, 2025.

A *S. sellowii* não é endêmica do Brasil, ou seja, é encontrada em outras partes do mundo, e na América Latina pode ser encontrada em locais de baixa umidade do ar, e no Brasil se distribui geograficamente pelo pantanal, cerrado, caatinga e mata atlântica, se estendendo então pelo centro-oeste, nordeste, sudeste e sul do país, como evidenciado na Figura 2 (Reflora, 2023).

Figura 2.: Distribuição de *S. sellowii* na América Latina e no Brasil.



Fonte: Royal Botanic Gardens, KEW. 2025; Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025.

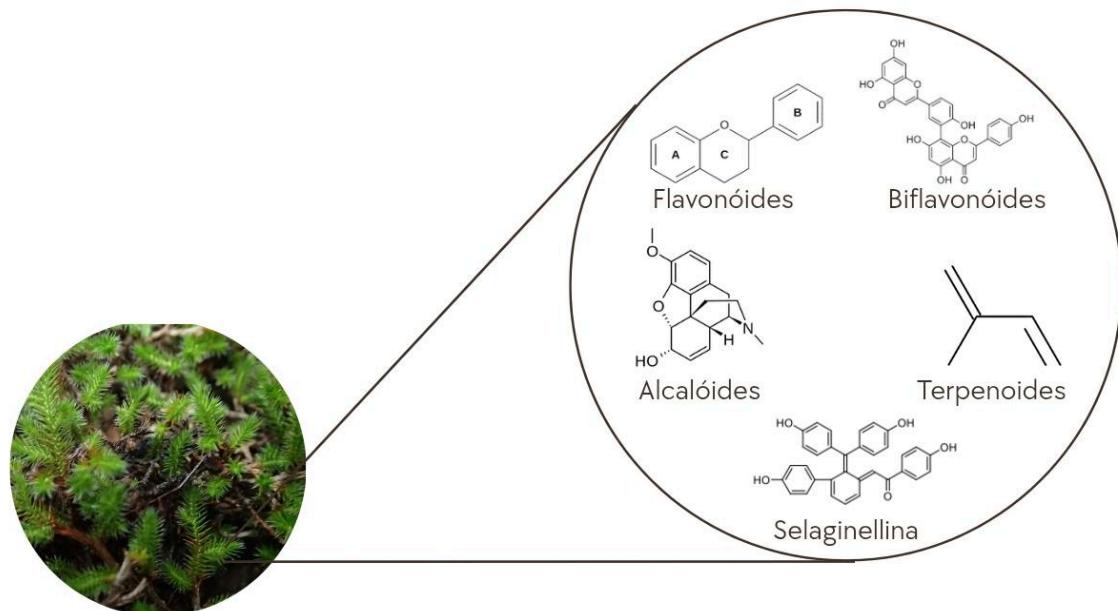
Essa família de ervas pode ainda ser encontrada em ambientes desérticos, montanhosos e extremo frio (Banks, 2009). Isso se deve ao seu elevado poder de adaptação, tolerância à dessecação e capacidade de recuperar água, relacionado à

alta concentração de biflavonóides e flavonóides, protetores contra a oxidação, e polióis envolvidos na recaptação de água, o que é chamado de fenômeno da revivência pela literatura (Bomfim, 2023), além da sua capacidade de alterar sua biossíntese de metabólitos durante a dessecação, ou ainda aumento dos canais de membrana e número de genes para formação de parede celular e fotossíntese (Alejo-Jacoinde *et al.*, 2020; Bomfim, 2023).

Apesar da variação metabólica desta planta, a depender da localização e período, já foram descritas altas concentrações de terpenóides e alcalóides, além dos flavonóides e biflavonóides. Mas também há presença de lignanas, fenóis, saponinas e selagineellinas em menores quantidades, as quais conferem ação antiestrogênica, antioxidante, hipocolesterolêmica, neuroprotetora e inibitória da monoamina oxidase B (Bomfim, 2023; Zhang *et al.*, 2021).

Os terpenos são responsáveis por ações farmacológicas tais como anti-inflamatória, ansiolítica e sedativa, repelentes, expectorante, analgésicos e outros (Silveira e Sá *et al.*, 2013; Kar, 2018). Enquanto os alcalóides são conhecidos por propriedades opióides, antineoplásicas, vasodilatadoras, anti-inflamatória, antioxidante, entre outras (Bhambhani *et al.*, 2021; Kar, 2018). Além desses constituintes, esta espécie apresenta flavonoides e biflavonoides, com capacidades antifúngicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e caridoprotetoras (Chen *et al.*, 2023; Gontijo *et al.*, 2016).

Figura 3. Esquema didático da composição majoritária das folhas de *S. sellowii*.



Fonte: Imagem da planta - INATURALIST. ***Selaginella sellowii Hieron.*** Disponível em: [\[https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos\]](https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos) [https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos]. Acesso em: 13 nov. 2025.

Imagen das moléculas: obtidas de sites diversos através de pesquisa no Google.

Para este trabalho, a fração hexano das folhas de *S. sellowii* foram concedidas pelo LAPNEM - Laboratório de Produtos Naturais e Espectrometria de Massas da UFMS, uma colaboração realizada com a Prof. Dra. Denise Brentan. As folhas foram coletadas em Campo Grande, MS, identificadas e cadastradas; e a extração foi realizada por extrator de solvente acelerado, com solventes de hexano e diclorometano na proporção 8:2, seguido de ciclo de concentração em um rotaevaporador, no ano de 2009. O extrato hexânico final tem coloração preta esverdeada com aspecto de cola densa.

Figura 4. Fotografia do extrato hexânico das folhas de *S. sellowii* em eppendorf.



Fonte: Própria autora.

Dessa forma, a avaliação do extrato de hexano das folhas de *S. sellowii* promove o esclarecimento da atividade de seus componentes frente à hemostasia sanguínea, compondo o arsenal bibliográfico da espécie, podendo, futuramente, suplementar ou até substituir medicamentos sintéticos existentes atualmente no mercado farmacêutico.

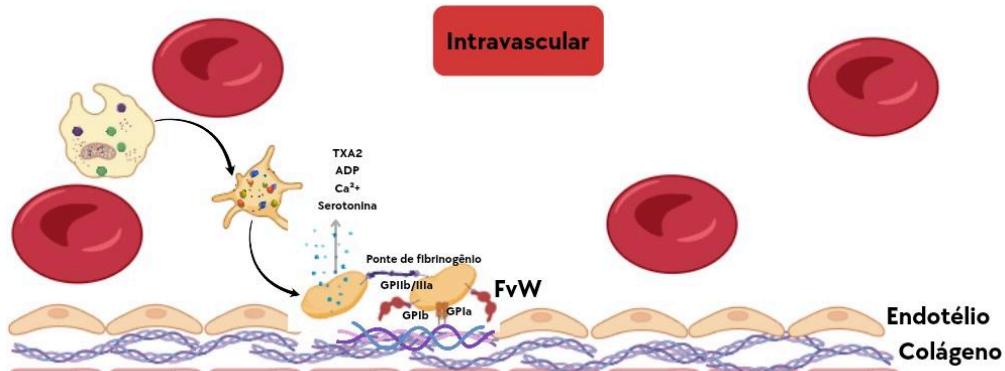
2.3 HEMOSTASIA

A hemostasia visa a integridade e equilíbrio corporal, de modo que quando há dano ao endotélio é ativada uma cascata de reação para restaurar a integridade do tecido (Hoffman *et al.*, 2018). Ela é viabilizada pela interação entre plaquetas, endotélio vascular e fatores da coagulação que participam do efeito pró ou anticoagulante (Espinoça *et al.*, 2024). Esse processo tem como principal função prevenir sangramentos exacerbados e tromboses, condições graves decorrentes da interrupção da hemostasia (Favaloro e Pasalic, 2024), a qual é didaticamente dividida em primária, responsável pela formação de um tampão plaquetário inicial que é instável, hemostasia secundária, onde a cascata de coagulação é ativada e por meio da interação de fatores da coagulação há a formação da rede de fibrina que é o tampão secundário estável, e hemostasia terciária também chamada de fibrinólise, que conta com a plasmina para degradação da rede de fibrina formada (Hoffman *et al.*, 2018).

2.3.1 HEMOSTASIA PRIMÁRIA

A hemostasia primária ocorre na fase vascular e plaquetária, em que, a partir de uma lesão ao tecido vascular, há vasoconstricção e exposição de colágeno endotelial com liberação de fator de von Willebrand (FvW) (Hoffbran e Moss, 2017). Com esse fator, ocorre a adesão das plaquetas ao endotélio lesado de forma direta por receptores GPIa ou indireta por receptores GPIb que se ligam primeiramente ao FvW (Espinoça, 2024); em seguida essas plaquetas são ativadas e liberam grânulos de serotonina, cálcio, adenosina difosfato (ADP) e tromboxano A2 (TXA2) que estimulam a agregação plaquetária, ligação cruzada das plaquetas mediada por receptores GPIIb e GPIIIa com pontes de fibrinogênio conectadas por ADP e estabilizadas com Ca^{2+} , isso forma o tampão plaquetário inicial instável (Hall e Hall, 2021).

Figura 5. Esquema representativo do processo de hemostasia primária.



Fonte: Adaptado de Espinoça, 2024.

2.3.2 HEMOSTASIA SECUNDÁRIA

A hemostasia secundária se inicia pela sinalização de substâncias liberadas pelas plaquetas, como o fator tecidual que é liberado pelo estímulo da exposição de colágeno e fosfolipídios, que estimulam a produção dos fatores de coagulação, enzimas capazes de mediar as reações da cascata de coagulação, a fim de transformar o fibrinogênio em fibrina para formar um tampão estável, pelos hepatócitos (Hoffman *et al.*, 2018).

Essa hemostasia ocorre em duas vias, intrínseca e extrínseca, as quais desencadeiam uma complexa cascata de coagulação e culminam na via comum da hemostasia, transformando fibrinogênio em fibrina (De Salles Ferreira, 2021), essa

por sua vez, formará a rede de fibrina, um tampão hemostático estável (Vayne *et al.*, 2021).

Os fatores de coagulação estão presentes nas 3 vias da coagulação, sendo o fator VII um fator específico da via extrínseca, ativado na presença de fator tecidual advindo da lesão vascular (Bianchi *et al.*, 2024). O fator VIIa junto ao Cálcio (Ca^{2+}) ativa o fator X, entrando, assim, na via comum que transformará protrombina (fator II) em trombina (fator IIa), depois fibrinogênio (fator I) em fibrina (fator Ia) (Radak *et al.*, 2020). Enquanto isso, participam da via intrínseca os fatores XII, XI, IX e VIII para ativar fator X e ter o mesmo efeito descrito anteriormente na via comum (Greer *et al.*, 2019).

Quando há alteração nesses fatores, seja por toxinas, hipertensão, cirurgias, estase sanguínea, uso de medicamentos ou ainda aumento da atividade de coagulação, pode ocorrer trombose ou hemorragias (Espinoça *et al.*, 2024).

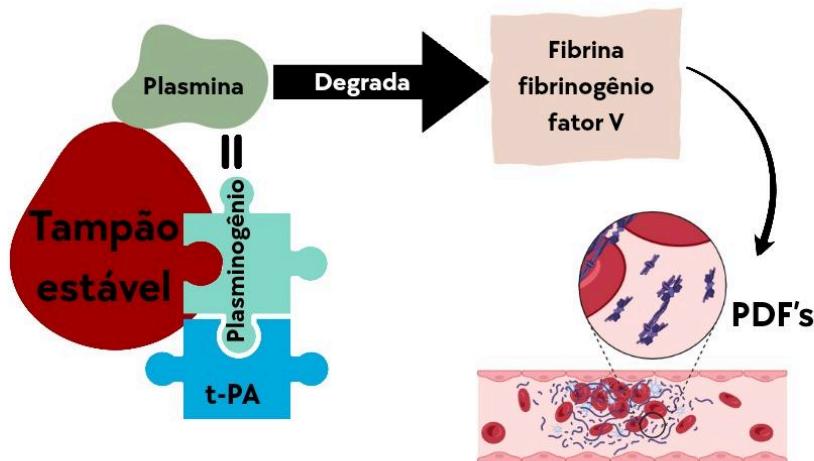
2.3.3 FIBRINÓLISE

A fibrinólise, também chamada de hemostasia terciária, diz respeito à degradação da fibrina, produto da coagulação para formação de tampão estável, pela plasmina (Lynch *et al.*, 2022). Esse processo pode ocorrer por cascata ativadora, por plasminogênio tecidual (t-PA), uroquinase e estreptoquinase (Katzung e Vanderah, 2022).

Após a conversão de plasminogênio em plasmina, a mesma degrada a fibrina, clivando seus resíduos de lisina e arginina. Degrada também o fibrinogênio e os fatores da coagulação como o fator V, promovendo a eliminação dos conteúdos dessa degradação, denominados produtos de degradação de fibrina, pela circulação. (Espinoça *et al.*, 2024).

Quando há presença de doença trombótica, o t-PA, a uroquinase e a estreptoquinase ativam o sistema de fibrinólise, mas em casos de sangramento descontrolado, há diminuição da fibrinólise para proteger os coágulos (Katzung e Vanderah, 2022).

Figura 6. Esquema representativo do processo de hemostasia terciária.



Fonte: Própria autora.

2.4 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (EROs)

As espécies reativas de oxigênio (ERO's), geradas em resposta a estímulos endógenos ou exógenos, desempenham funções importantes na hemostasia, participando da atividade das plaquetas, do controle do tônus vascular e da agregação plaquetária (Jiang *et al.*, 2024). Essas moléculas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), são produzidas principalmente pela enzima NADPH oxidase e influenciam tanto mecanismos como a ativação da fosfolipase C, quanto o metabolismo do ácido araquidônico (Jin *et al.*, 2010). No entanto, quando em excesso, associadas à baixa disponibilidade de antioxidantes, as EROs contribuem para o desenvolvimento de doenças como aterosclerose, diabetes, envelhecimento precoce e disfunção do endotélio, comprometendo a vasodilatação e favorecendo eventos trombóticos (Espinoça *et al.*, 2024).

Atualmente, as pesquisas sugerem que a participação das ERO's vai além de funções e disfunções celulares, sendo, assim, associadas ao declínio da saúde e distúrbios neurológicos. Isso é devido a sua presença em diversas cascadas de sinalização no desenvolvimento, proliferação e sobrevivência celular (Tauffenger e Magistretti, 2021).

3. JUSTIFICATIVA

A justificativa para este trabalho se dá pela relevância do estudo, visto que a ineficiência do processo de hemostasia acarreta doenças hemostáticas sérias com significativa prevalência na população, as quais podem ser hemorrágicas como por exemplo a doença de von Willebrand que acomete aproximadamente 1% da população mundial (DU *et al.*, 2023), ou tromboses, como a trombose venosa profunda da qual se tem uma média de 10 milhões de casos por ano no mundo (Lutsey, Zakai, 2013).

Usualmente, para tratamento dessas doenças se faz uso, mais comumente, de vitaminas K ou antagonistas da mesma, Fatores de coagulação, Ácido tranexâmico, anticoagulantes orais diretos (DOACS), Ácido acetil salicílicos (AAS), pois são os principais disponíveis para consumo hoje em dia, tratando-se de hemorragias e tromboses (Goodman, Gilman, 2019), entretanto, já há estudos acerca da discussão da segurança destes medicamentos sintéticos para o paciente (Robert *et al.*, 2021).

Enquanto há espécies de plantas com potencial terapêutica no Pantanal e Cerrado, como é o caso da *S. sellowii*, que por isso apresente alto custo-benefício para pesquisa, devido ao baixo custo de obtenção da matéria-prima, valorização da biodiversidade nacional, menor impacto ambiental, possibilidade de novos bioativos, baixa toxicidade comparado aos medicamentos sintéticos usuais, amplificação do potencial terapêutico pela interação das substâncias presentes em um extrato e contribuição ao arsenal bibliográfico de produtos naturais.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito da fração hexânica do extrato das folhas de *S. sellowii* , com sigla de estudo FXSS sobre a hemostasia humana, assim contribuindo com o arsenal bibliográfico em desenvolvimento da espécie.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a toxicidade *in vitro* da FXSS em plaquetas humanas;
- Verificar o efeito da FXSS sobre a agregação plaquetária utilizando-se um agonista plaquetário;
- Avaliar o efeito da FXSS sobre os parâmetros de coagulação sanguínea;
- Estudar o efeito da FXSS acerca da capacidade de ativação plaquetária.

5. METODOLOGIA

5.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este projeto foi anteriormente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP-SH) vinculado à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sob nº de parecer 6.885.031 (CAAE: 78103624.6.0000.0021 – Anexo A). Além disso, a *S. sellowii* coletada em junho de 2009 em Campo Grande, MS, foi identificada e cadastrada no Sistema Nacional do Patrimônio genético sob o SisGen nº AE8625B.

5.2 EXTRAÇÃO DA FRAÇÃO HEXANO DAS FOLHAS DE *Selaginella sellowii* Hieron

A extração foi realizada em extrator de solvente acelerado (ASE 150 DionexTM®), obtendo-se um extrato de hexano e diclorometano 8:2, o qual foi concentrado em um rotaevaporador sob pressão e seguinte lyofilização, com rendimento de 2%. Os seguintes parâmetros foram considerados: ciclos de extração estático de 5 min, volume de lavagem 80%, pressão de 1500 psi, purga de 60s e 100°C de temperatura. Ao final da extração, obteve-se a fração hexânica do extrato de *S. sellowii* (FXSS). A técnica de extração foi realizada pelo Laboratório de Produtos Naturais e Espectroscopia de Massas (LAPNEM), coordenado pela Profa. dra. Denise Brentan da Silva.

5.3 COLETA DE AMOSTRAS E ISOLAMENTO DAS PLAQUETAS

A coleta das amostras de sangue foi realizada de maneira voluntária por indivíduos saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 18-40 anos de idade, sem histórico de hemorragias e outras doenças circulatórias. Foi coletado de 3 a 10 mL de sangue por profissionais autorizados e capacitados do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (LAC/FACFAN/UFMS).

Após a coleta por punção venosa, utilizando tubos contendo citrato de sódio (3,8%) (9:1; m/v), o sangue foi centrifugado por 10 minutos a 1.110 g. O número de

plaquetas foi ajustado para 200.000-250.000 plaquetas/mm³ em solução fisiológica, obtendo o plasma rico em plaquetas (PRP). Para realização dos ensaios plaquetários, foi utilizado um *pool* de plasma, composto por uma mistura de no mínimo 5 PRP de indivíduos diferentes.

5.4 ATIVIDADE BIOLÓGICA

5.4.1 Toxicidade *in vitro* com Azul de trypan

A viabilidade das plaquetas e potencial tóxico do extrato foram avaliados utilizando o ensaio de exclusão com azul de Trypan. Dessa forma, foram incubados 400 µL do pool de PRP com as concentrações de FXSS (50, 100, 200; 400; 800 e 1000 µg/mL) solubilizadas em veículo (DMSO 0,5%, controle negativo-CN) por 5 minutos. Foi utilizado para o controle positivo Triton X100 1% (v/v), pois é um composto tóxico para as células humanas, inviabilizando-as em aproximadamente 100% neste experimento. Após as incubações, 50 µL do *pool* de PRP tratado nas diferentes concentrações e controles foram misturados com 50 µL de azul de Trypan a 0,4% e 20 µL dessa mistura foi transferida para uma câmara de Neubauer para contagem de plaquetas totais e não viáveis. Como controle negativo (CN) foi utilizado DMSO 0,6% para avaliação de seu efeito em comparação com o tratamento, possibilitando inferir se há interferência do mesmo ou não. Por fim, para a determinação da viabilidade das plaquetas, foi utilizada a Equação 1 e o resultado foi expresso em porcentagem (%) de plaquetas viáveis (adaptado de Louis e Siegel., 2011; Strober, 2015).

$$\text{Equação 1. Plaquetas viáveis (\%)} = \frac{n^{\circ} \text{ total de plaquetas viáveis}}{n^{\circ} \text{ total de plaquetas}} \times 100$$

5.4.2 Determinação da agregação plaquetária

A medida da agregação plaquetária foi realizada por turbidimetria, utilizando-se um aparelho agregômetro semiautomatizado (EasyAgreg, Qualiterm®). Para isso, foram utilizados 400 µL do *pool* plasma rico em plaquetas (PRP).

As plaquetas foram pré-incubadas com as concentrações de FXSS e controles negativo e positivo, (DMSO 0,6% e ticlopidina 10 µM, respectivamente),

sendo o positivo a substância capaz de inibir aproximadamente 100% da agregação plaquetária, conforme Webber e colaboradores (2022), por 5 minutos e homogeneizadas sob agitação magnética a 37°C em curveta. Após esse período, foram adicionados os agentes agregantes ADP. Como controle branco foi utilizado o plasma pobre em plaquetas para ajustar a turbidimetria antes da análise da amostra com tratamento, composto de 10.000 plaquetas/mm³ (PPP). Foram realizadas, em 3 dias diferentes, triplicatas de todos os ensaios.

5.4.3 Avaliação da coagulação sanguínea

A avaliação da coagulação sanguínea foi realizada em um sistema semiautomatizado de coagulação (CLOTtimer, Quick Timer[®]), utilizando kits comerciais (Gold Analisa[®]), para a medida dos tempos de Protrombina (TP) e Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa). Assim, o plasma rico em plaquetas foi pré-incubado com diferentes concentrações de FXSS e veículo (DMSO 0,5%) por 5 min a 37 °C. Enquanto os controles normal (basal), que fornece os TP e TTPa normais do pool de amostra biológica, e positivo, neste caso a heparina 17 UI/mL de sangue a qual reduz os parâmetros de coagulação em aproximadamente 100%, foram incubados respectivamente apenas com veículo e heparina (17 UI/mL de sangue) (Webber *et al.*, 2022).

5.4.4 Quantificação conteúdo de ERO's intraplaquetário

A determinação do conteúdo intraplaquetário de EROs foi realizada por fluorescência em um leitor de microplacas multimodo (Synergy TM H1, BioTek Instruments[®], Vermont, Estados Unidos). Para isso, um *pool* de PRP (200 µL) foi incubado com 2,5 µL de concentrações de FXSS ou controles por 10 minutos, sendo o controle negativo o veículo (DMSO 0,6%), e o controle positivo constituído de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) o qual estimula produção de quantidades extremas de ERO's, em uma microplaca de fundo escuro. Em seguida, foi adicionado 10µL de 2',7'diclorodihidrofluoresceína-diacetato (DCFH-DA, 10 µM) seguido de incubação por 30 minutos. Posteriormente, foi realizada a leitura em 485 nm de excitação e 520 nm de emissão. Os resultados foram expressos em intensidade de fluorescência (Reiniers *et al.*, 2017).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

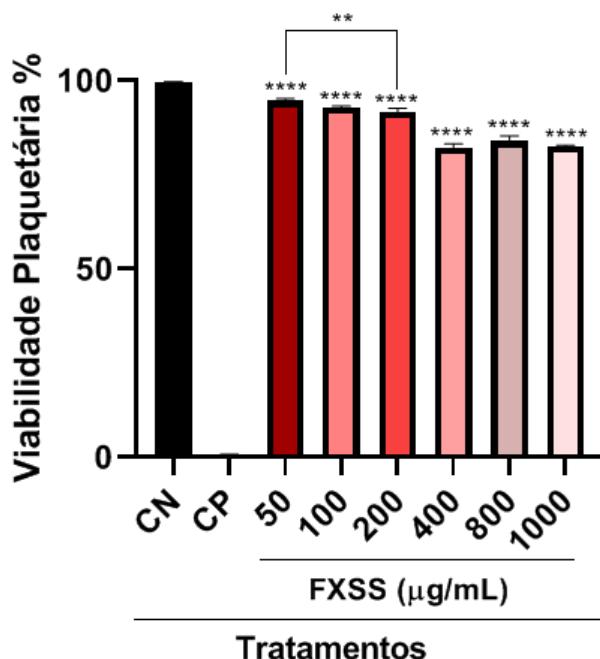
A distribuição de normalidade do conjunto de dados foi testada usando o teste de Kolmogorov–Smirnov. A análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), que compara as variâncias entre as médias de grupos diferentes, juntamente com o pós-teste de Tukey-Kramer, quando necessário, com significância mínima de $p<0,05$. O software utilizado foi o GraphPad Prism versão 8.0.2

6. RESULTADOS

6.1 VIABILIDADE PLAQUETÁRIA

Observou-se que apesar da FXSS diminuir a viabilidade plaquetária em todas as concentrações analisadas, houve manutenção da viabilidade acima de 80% em todas as concentrações testadas, mostrando baixa toxicidade frente às plaquetas humanas, como ilustra a Figura 3.

Figura 7. Viabilidade de plaquetas humanas expostas ao FXSS avaliadas por microscopia óptica.



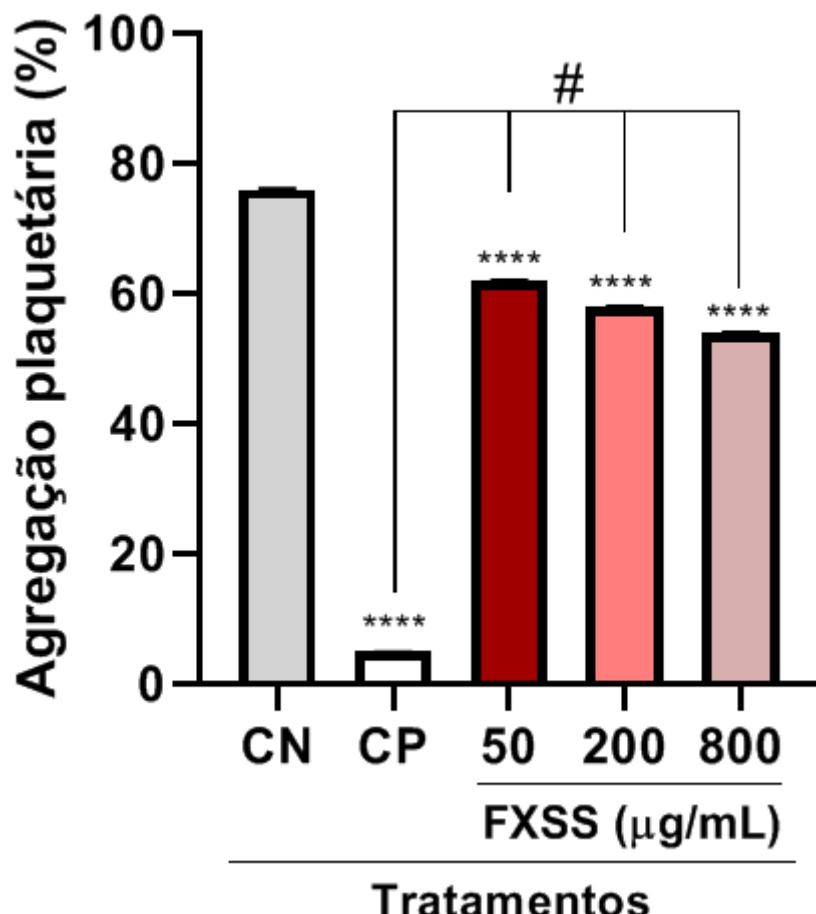
Nota: Porcentagem de plaquetas viáveis submetidas ao tratamento com diferentes concentrações de *S. sellowii* (50 a 1000 μ L/mL); CN = Controle Negativo (DMSO 0,6%); CP = Controle Positivo (Triton x 100). (***): Diferença significativa em relação ao CN (P-valor < 0,001). (**) Diferença significativa entre as concentrações.

Fonte: Própria autora.

6.2 AGREGAÇÃO PLAQUETÁRIA

Utilizando-se adenosina difosfato (ADP) como agonista plaquetário, houve uma redução significativa da agregação plaquetária em todas as concentrações testadas, ocorrendo uma diminuição de 14%, 18% e 22% nas concentrações de 50 μ g/mL, 200 μ g/mL e 800 μ g/mL, respectivamente em relação ao CN, como mostra a Figura 7. Sendo assim, um extrato com comportamento antiplaquetário.

Figura 8. Porcentagem de agregação plaquetária em plaquetas humanas expostas ao FXSS em diferentes concentrações medidas por turbidimetria com ADP.



Nota: CN = Controle Negativo (DMSO 0,6%); CP = Controle Positivo Ticlopidina 10 μ M. (****) Diferença significativa em relação ao CN (P-valor < 0,001). (#) Diferença significativa em relação ao CP.

Fonte: Própria autora.

6.3 EFEITO DA FXSS SOBRE OS PARÂMETROS DE COAGULAÇÃO

Os resultados referentes aos parâmetros de coagulação mostraram que a FXSS não apresentou efeitos significativos sobre a cascata de coagulação, exceto, curiosamente, o TTPa na concentração de 50 μ g/mL, o qual diminuiu em 26,93% em relação ao controle negativo.

Tabela 1. Tempo de protrombina (TP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) medidos por turbidimetria em plasma humano pré-incubado com diferentes concentrações da FXSS.

Amostras ¹	Ensaio de coagulação sanguínea ²			
	TP		TTPa	
	Tempo (seg)	RNI ³	Tempo (seg)	Razão ⁴
Controle normal	13 ± 0,25	-	23 ± 2,36	-
Controle negativo	13 ± 0,37	0,97	26 ± 2,61	1,13
FXSS (50 µg/mL)	13 ± 0,20	1,01	19 ± 0,87*	0,84
FXSS (200 µg/mL)	13 ± 0,45	1,00	26 ± 4,13	1,11
FXSS (800 µg/mL)	13 ± 0,20	1,02	21 ± 1,50	0,92
Heparina (17 UI/mL de sangue)	> 100	-	> 100	-

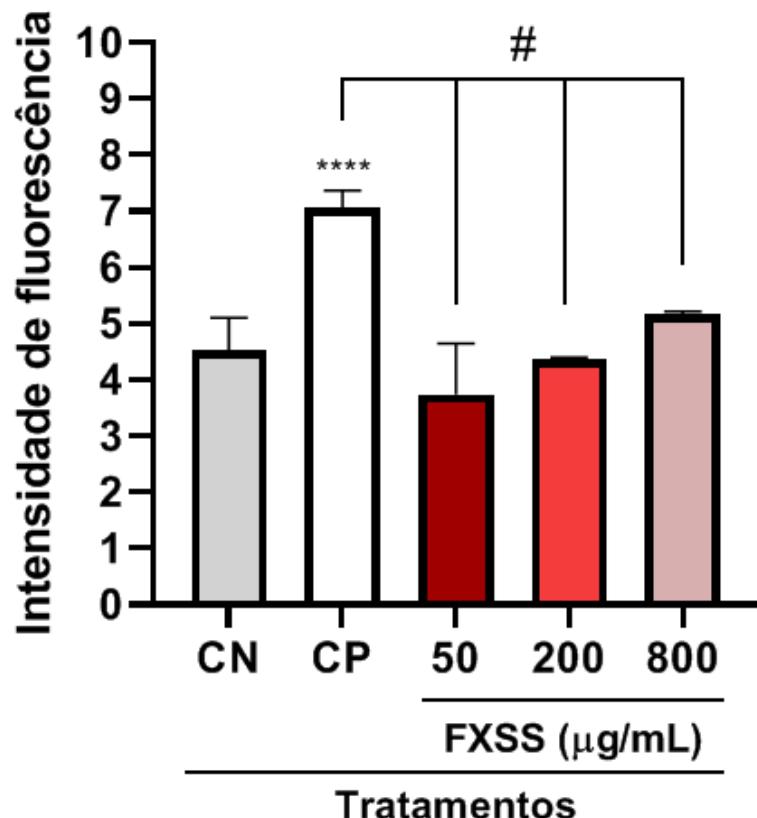
Nota: ¹ Fração hexânica do extrato de *S. sellowii* (FXSS) em diferentes concentrações; controle negativo (veículo, DMSO 0,6%) e heparina (controle positivo). ² Determinação do TP e tempo de TTPa em segundos (seg) medido em plasma humano tratado com FXSS e expresso em média ± desvio padrão (DP). ³ Razão normalizada internacional (RNI) calculada com base nos resultados do TP é usada para monitorar a eficácia do anticoagulante. ⁴ Razão entre os valores de tempo entre o(s) tempo (s) das concentrações e o(s) tempo(s) do controle. (*) Diferença significativa entre as concentrações e o controle negativo ($P < 0,05$)

Fonte: Própria autora.

6.4 CAPACIDADE DE ATIVAÇÃO PLAQUETÁRIA

A Figura 8 evidencia os resultados obtidos da exposição das plaquetas frente às diferentes concentrações de FXSS com incubação de 10 min em amostras de plasma humano, onde observou-se que a FXSS não foi capaz de diminuir a produção de ERO's significativamente em relação ao controle negativo.

Figura 9. Conteúdo de espécies reativas de oxigênio (ERO's) intraplaquetárias após exposição ao FXSS por 10 min medidas por intensidade de fluorescência.



Nota: CN = Controle Negativo (DMSO 0,6%); CP = Controle Positivo peróxido de hidrogênio (H_2O_2).
 (****) Diferença significativa em relação ao CN (P -valor < 0,001). (#) Diferença significativa em relação ao CP.

Fonte: Própria autora.

7. DISCUSSÃO

O equilíbrio do sistema circulatório, que deve manter a integridade dos vasos sanguíneos e a fluidez do sangue quando há lesão tecidual, depende da ativação e amplificação da coagulação, inibição da coagulação e fibrinólise (Poventud-Fuentes *et al.*, 2020; Del Carmen *et al.*, 2019). Porém, a disfuncionalidade desse sistema hemostático ocasiona doenças hematológicas como trombose e infarto agudo do miocárdio, condições que podem causar complicações fatais (Shi *et al.*, 2024).

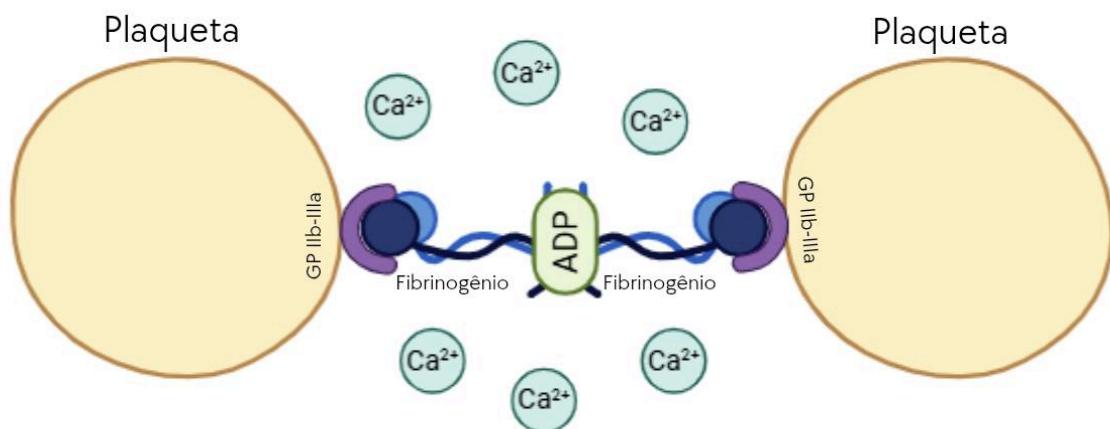
O extrato de hexano das folhas de *S. sellowii*, é uma fração a qual seria descartada em estudo anterior de Bonfim, 2023, onde foi analisada a atividade antileishmania. No entanto, essa fração, devido a alta apolaridade da mistura de solventes, possui quantidades significativas de terpenos e alcalóides principalmente, pois são muito apolares, seguidos de flavonoides e biflavonoides que são semi polares (Simões *et al.*, 2017). Isso foi muito útil, visto que já haviam estudos de outras selaginelas sobre a hemostasia e tais compostos majoritários têm ação sobre a fisiologia do sangue já comprovada.

Diante dos resultados, observa-se que a FXSS não induziu toxicidade em plaquetas humanas em ampla faixa de concentração, que foi inicialmente escolhida para contemplar as concentrações utilizadas nos dois estudos anteriores com a mesma espécie do extrato diluído em série. Tal falta de toxicidade foi também averiguada nesses estudos, o de Rizk, 2014 e de Bonfim, em 2023.

Além disso, a FXSS demonstrou potencial ação antiagregante plaquetária, ou seja, mostrou-se um promissor composto antitrombótico, portanto atua na hemostasia primária sobre a fase de agregação, quando as plaquetas aderidas ao endotélio lesado expressam receptores GPIIb/IIIa, que se ligam ao fibrinogênio, formando uma ligação plaqueta-plaqueta com uma molécula de ADP que faz a interligação, sendo esta estabilizada por moléculas de cálcio (Hoffbrand, Moss, 2017). Comportamento semelhante foi observado em estudos anteriores de Zhuo e colaboradores em relação a neolignanas derivadas de uma espécie também da família das selaginellaceae (Zhuo *et al.* 2016) e também em outro estudo de Dakshayani e colaboradores, que observaram efeito antiagregante leve utilizando-se ADP em análise de nanopartículas de extrato de *S. bryopteris* (Dakshayani *et al.*, 2019).

Farmacologicamente, a FXSS pode estar bloqueando a COX-1 e inibindo a formação de TXA₂, grânulo liberado pelas plaquetas na hemostasia primária para amplificação do sinal, ou reduzindo a ativação plaquetária necessária para agregação, seja impedindo a ligação de ADP ao receptor, ou aumentando os níveis intracelulares de AMPc, outra hipótese é de inibição direta das glicoproteínas de adesão e agregação plaquetária (Goodman, Gilnman, 2019).

Figura 10. Esquema didático da etapa de agregação plaquetária.



Fonte: Própria autora.

Em relação a coagulação sanguínea, onde a FXSS não exibiu atividade anti ou pró coagulante na maioria das concentrações testadas, os estudos anteriores mostram atividade pró coagulante com extrato de *Selaginella tamariscina* (Zhang et al., 2018) ou ainda que a variação dos parâmetros de coagulação podem variar de acordo com a formulação preparada a partir do extrato feito, no caso de Zhao e colaboradores, 2020, extrato de *S. tamariscina*.

A avaliação da capacidade de ativação plaquetária foi realizada como forma de testar uma hipotética via de atuação de FXSS já que ela exibiu atividade antiplaquetária, visto que as espécies reativas de oxigênio são produzidas pelas plaquetas, principalmente na forma de peróxido de hidrogênio, quando as mesmas são ativadas por agonistas plaquetários, como por exemplo o ADP (Hoffbrand, Moss, 2017). No entanto, a FXSS não foi capaz de reduzir a ativação plaquetária em nenhuma das concentrações testadas em relação ao controle negativo, diferindo de estudos anteriores com extrato etanólico de *S. tamariscina*, onde, após incubação do tratamento, houve a detecção de marcadores de estresse oxidativo nas plaquetas (Won et al., 2018).

Pode-se atribuir o efeito antiagregante plaquetário de FXSS aos seus compostos majoritários, pois os flavonóides e biflavonoides possuem cadeia polifenólica capaz de interagir com radicais livres, diminuir a síntese de tromboxano A2, bloquear receptores plaquetários, tem ação vasodilatadora e anti-inflamatória (Faggio *et al.*, 2017). Por outro lado, os terpenoides podem ter ação antiagregante por alterar a permeabilidade de membrana e o aumento de adenosina monofosfato ciclica (cAMP) (Nikitina *et al.*, 2022). Os alcalóides, devido ao seu átomo de nitrogênio básico, pode ter ação antiplaquetária através de ligações de pontes de hidrogênio e interagir com sítios com carga elétrica negativa e fosfolipídios de membrana (Kahn *et al.*, 2018).

Portanto, o extrato atua sobre hemostasia primária, sendo assim um potencial agente antitrombótico, podendo ter seu efeito justificado por outras vias bioquímicas que ainda devem ser investigadas. Isso pode ser feito através do ensaio de agregação plaquetária utilizando outros agentes agregantes como ação de ácido araquidônico, colágeno e epinefrina. Além disso, sugere-se a investigação da exposição de P-selectina plaquetária, influxo de cálcio plaquetário, análise fitoquímica e toxicidade sistêmica feita em larvas de *Galleria mellonella*, além da avaliação de índice de hemólise .

8. CONCLUSÃO

A partir deste estudo, pode-se concluir que o extrato hexânico de *S. sellowii* exerce os seguintes efeitos sobre a hemostasia humana:

- Não apresenta toxicidade *in vitro*;
- Diminuição da agregação plaquetária.
- Inerte sobre a cascata de coagulação.
- Incapacidade de impedir a ativação plaquetária.

9. PERSPECTIVAS

A partir dos resultados obtidos com esta pesquisa, almeja-se aprofundar o estudo com ensaios de:

- Agregação plaquetária com outros agonistas plaquetários;
- Expressão de P-selectina plaquetária;
- Influxo de cálcio plaquetário;
- Índice de hemólise;
- Toxicidade sistêmica em larvas de *Galleria mellonella*;
- Fitoquímica por cromatografia gasosa acoplada a massas.

Além de futuras publicações do estudo.

REFERÊNCIAS

- ALBUTTI, A. et al. Network Pharmacology Approach for Medicinal Plants: Review and Assessment. **Pharmaceutics**. v. 15, 2022. <https://doi.org/10.3390/ph15050572>.
- ALEJO-JACUINDE, G. et al. Comparative transcriptome analysis suggests convergent evolution of desiccation tolerance in Selaginella species. **BMC Plant Biology**, v. 20, p. 468, 2020.
- ANUGRAHINI, C. P. H. et al. **Review Selaginella's Potential for Anticancer.** **Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia**, p. 154-160, 2024.
- BANKS J. A. Selaginella and 400 million years of separation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 223-238, 2009.
- BHAMBHANI, S. et al. Diversity in Chemical Structures and Biological Properties of Plant Alkaloids. **Molecules (Basel, Switzerland)** vol. 26,11 3374. 3 Jun. 2021, doi:10.3390/molecules26113374
- BIANCHI, G. et al. Activated Factor VII–Antithrombin Complex, a Biomarker of Tissue Factor-Related Pathways in Different Clinical Settings: A Narrative Review from Cardiovascular Diseases to Cancer. **Diagnostics**, v. 14, n. 16, p. 1711, ago. 2024.
- BONFIM, I. **Caracterização química de Selaginella sellowii Hieron (Selaginellaceae) e atividades antileishmania e antibacteriana.** 2023.
- CARVAJAL, G. C. **MANEJO SUSTENTÁVEL E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE NO PANTANAL: UM CAMINHO PARA A SUSTENTABILIDADE.** 2024.
- CHEN, S. et al. A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. **Molecules, Basel**, v. 28, n. 13, art. 4982, Jun. 2023.
- DAKSHAYANI, S. et al. "Antimicrobial, anticoagulant and antiplatelet activities of green synthesized silver nanoparticles using Selaginella (Sanjeevini) plant extract." **International journal of biological macromolecules** vol. 131, p: 787-797. 2019. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.222
- DEL CARMEN, R. et al. Hemostasia y factores asociados a tendencia trombótica. **Contenido/Contents**, v. 66, n. 4, p. 227-233, 2019.
- DE SALES FERREIRA, A. M. M. ATUALIZAÇÃO EM HEMOSTASIA. **Profissionais De Saúde E A Multiprofissionalidade**, p. 47, 2021.
- DIAS, D. A. et al. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites** vol. 2,2 303-36. 16 Apr. 2012, doi:10.3390/metabo2020303.
- DUFOUR-GAUME, F. et al. Danger signals in traumatic hemorrhagic shock and new lines for clinical applications. **Frontiers in Physiology**, Jan. 2023.

DU, P.; BERGAMASCO, A.; MORIDE, Y.; TRUONG BERTHOZ, F.; ÖZEN, G.; TZIVELEKIS, S. *et al.* Von Willebrand Disease Epidemiology, Burden of Illness and Management: A Systematic Review. **Journal of Blood Medicine**, v. 14, p. 189-208, 02 mar. 2023.

ESPINOÇA, I. T. *et al.*, Antithrombotic Effect of Oil from the Pulp of Bocaiúva-Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart. (Arecaceae). **Nutrients**. 2024. doi: 10.3390/nu16132024. PMID: 38999771; PMCID: PMC11243071.

FAGGIO, C. *et al.* Flavonoids and platelet aggregation: A brief review. **Eur J Pharmacol**, v. 807, p. 91-101, 2017. doi:10.1016/j.ejphar.2017.04.009

FAVALORO, E., PASALIC, L. Soluções diagnósticas inovadoras em hemostasia. **Diagnóstico**, v. 14, 2024. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14222521>.

GAUDÊNCIO, S. *et al.* Métodos avançados para descoberta de produtos naturais: triagem de bioatividade, desreplicação, perfil metabolômico, sequenciamento genômico, bancos de dados e ferramentas informáticas, e elucidação de estruturas. **Medicamentos Marinhos**. v. 21, 2023. <https://doi.org/10.3390/md21050308>.

GOODMAN, L.; GILMAN, A.. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Porto Alegre: AMGH, 2019.

GONTIJO, V. *et al.* **Biological and Chemical Aspects of Natural Biflavonoids from Plants: A Brief Review**. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, v. 17, n. 10, nov. 2016.

GREER, J. P. *et al.* **Wintrobe's Clinical Hematology**. 14. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019.

HALL, J. ; HALL, M. **Tratado de fisiologia médica**. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2021.

HIRAI, R., PRADO, J.. Selaginellaceae Willk. no Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 313-339, 2000.

HOFFBRAND, Victor, MOSS, Poul. **Hematologia: a patologia do sangue**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

HOFFMAN, R.; BENZ, E. J.; SILBERSTEIN, L. E.; *et al.* **Hematology: Basic Principles and Practice**. 7. ed. Philadelphia: Elsevier, 2018.

INATURALIST. ***Selaginella sellowii Hieron.*** [Internet]. Disponível em: [\[https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos\]](https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos)(https://www.inaturalist.org/taxa/204753-Selaginella-sellowii/browse_photos). Acesso em: 13 nov. 2025.

JIANG, H. **Redox regulation of platelet function and thrombosis**. **J Thromb Haemost**, v. 22, p.1550-1557, jun 2024. doi: 10.1016/j.jtha.2024.02.018.

JIN, R. *et al.*, **Angiotensin II, NADPH Oxidase, and Redox Signaling in the Vasculature**. **Hypertension Research**, v. 33, n. 1, p. 23-29, jan. 2010.

KAR, A. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**. New Delhi: New Age International (P) Ltd., 2018.

KATZUNG, B.; VANDERAH, T. **Farmacologia básica e clínica**. 15. ed. Porto Alegre: Artmed, 2022. 1328 p. ISBN 978-6558040187.

KAHN, H. *et al.* Suppression of platelet aggregation and thrombosis by plant-derived bioactives compounds and their mechanisms of action. **Food and Chemical Toxicology**, v. 119, p. 95-105, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.05.049>.

LYNCH, S. *et al.* Microscale structural changes of individual fibrin fibers during fibrinolysis. **Acta Biomaterialia**, v. 141, p. 114-122, 2022. DOI: [10.1016/j.actbio.2022.01.006](https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.01.006).

LOUIS, K.; SIEGEL, A. Cell viability analysis using trypan blue: manual and automated methods. In: Mammalian cell viability. **Humana Press**, p. 7-12, 2011.

LUTSEY, Pamela L.; ZAKAI, Neil A. Epidemiology and prevention of venous thromboembolism. **Nature Reviews Cardiology**, v. 20, n. 4, p. 248-262, out. 2022. DOI: [10.1038/s41569-022-00787-6](https://doi.org/10.1038/s41569-022-00787-6).

MARIN, P. *et al.* Interactions between Natural Products - A Review. **Metabolites**. v. 12, 2022. <https://doi.org/10.3390/metabo12121256>.

MU K. *et al.* A review of hemostatic chemical components and their mechanisms in traditional Chinese medicine and ethnic medicine. **J Ethnopharmacol**. v. 10, p. 307:116200, Mai. 2023. doi: [10.1016/j.jep.2023.116200](https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116200).

NIKITINA L. *et al.* Unraveling the Mechanism of Platelet Aggregation Suppression by Monoterpeneoids. **Bioengineering (Basel)**, v. 9, no. 1, p.24, Jan. 2022. doi:[10.3390/bioengineering9010024](https://doi.org/10.3390/bioengineering9010024)

NORIS, M., GALBUSERA, M. A via alternativa do complemento e a hemostasia. **Revisões Imunológicas**. v. 313, 2022. <https://doi.org/10.1111/imr.13150>.

POVENTUD-FUENTES,I. *et al.* Um modelo de lesão vascular humana em um chip de hemostasia. **Pequeno**. 2020 <https://doi.org/10.1002/smll.202004889>.

REFLORA: **FLORA E FUNGO DO BRASIL**: *Selaginella sellowii* Hieron, 2023. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ResultadoDaConsultaNovaConsulta.do#CondicaoTaxonCP>. Acesso em 26 de Jun. 2025.

REINIERS, M. *et al.* Preparation and practical applications of 2',7'-dichlorodihydrofluorescein in redox assays. **Analytical Chemistry**, v. 89, n. 7, p. 3853-3857, 2017. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.analchem.7b0004>.

RIZK, Y. *et al.* In vitro activity of the hydroethanolic extract and biflavonoids isolated from *Selaginella sellowii* on *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 109, n. 8, p. 1050–1056, 2014. DOI: [10.1590/0074-0276140312](https://doi.org/10.1590/0074-0276140312).

ROBERTI, R.; IANNONE, L. F.; PALLERIA, C. et al. Direct Oral Anticoagulants: From Randomized Clinical Trials to Real-World Clinical Practice. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, art. 684638, 26 maio 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.684638.

RODAK, B. F. et al. **Hematology: Clinical Principles and Applications**. 6. ed. St. Louis: Elsevier, 2020.

ROYAL BOTANIC GARDENS, KEW. *Selaginella sellowii* Hieron. In: Plants of the world Online. Kew: Royal botanic gardens, 2025. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:232292-2/general-information>. Acesso em 16 out.2025.

SAKURAI, Y. et al. Um modelo de sangramento vascularizado microengenheirado que integra os principais componentes da hemostasia. **Nature Communications**, v. 9, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-02990-x> .

SHI, Y., et al. Uma nanozima carregada com nattoquinase para aliviar o infarto agudo do miocárdio por meio de trombólise e antioxidante. **Materiais avançados de saúde**, v. 14, 2024. <https://doi.org/10.1002/adhm.202402763> .

SÍLVEIRA E SÁ, R. et al. Uma revisão sobre a atividade anti-inflamatória de monoterpenos. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 1227-1254, jan. 2013.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

STROBER, W. Trypan blue exclusion test of cell viability. **Current protocols in immunology**, v. 111, n. 1, p. A3. B. 1-A3. B. 3, 2015.

TAUFFENBERGER, A., MAGISTRETTI, P. Espécies reativas de oxigênio: além de seu comportamento reativo. **Pesquisa Neuroquímica**, v. 46, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03208-7>.

TRIPLETT, D. et al. The effect of heparin on the activated partial thromboplastin time. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 70, p.556-559, 1978.

TVEDEN-NYBORG, P. et al. **Perspectivas do BCPT em estudos envolvendo produtos naturais, medicina tradicional chinesa e farmacologia de sistemas**. Farmacologia Básica e Clínica e Toxicologia, v. 135, p: 782-785, 2024. <https://doi.org/10.1111/bcpt.14109> .

VAYNE, C. et al. Hemostasia: fisiologia e principais exames. **EMC-Medical Textbook**, v. 25, n. 1, pp. 1-10, 2021.

WEBBER S. et al. Chemical profile, antimicrobial potential, and antiaggregant activity of supercritical fluid extract from *Agaricus bisporus*. **Chemical Papers**, v. 76, n. 10, p. 6205-6214, 2022. <http://dx.doi.org/10.1007/s11696-022-02308-8>.

WON, A. et al. "HO-1 Induction by *Selaginella tamariscina* Extract Inhibits Inflammatory Response in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW 264.7 Macrophages." **Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM** vol. 2018 7816923. 18 Nov. 2018, doi:10.1155/2018/7816923.

ZHANG, Z. *et al.* The effect of CBT and its modifications for relapse prevention in major depressive disorder: a systematic review and meta-analysis. **BMC Psychiatry**, v. 18, art. 50, 2018. DOI: 10.1186/s12888-018-1610-5.

ZHANG, Y. *et al.* Selaginella species: A comprehensive review on their phytochemistry and pharmacological properties. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 264, p. 113320, 2021.

ZHAO, Y. *et al.* Haemostatic nanoparticles-derived bioactivity from Selaginella tamariscina Carbonisata. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 446, 2020. DOI: 10.3390/molecules25030446.

ZHUO, J-X. *et al.* Neolignans from Selaginella moellendorffii. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 6, n. 3, p. 161–166, abr. 2016.

ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA EM SERES HUMANOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DO
MATO GROSSO DO SUL -
UFMS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos biológicos de extratos e compostos isolados de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii*

Pesquisador: EDUARDO BENEDETTI PARISOTTO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 78103624.6.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.885.031

Apresentação do Projeto:

Introdução: A trombose associada a doenças arteriais é a principal causa de morbidade e mortalidade, podendo levar a uma obstrução arterial, ocasionando déficit sanguíneo e perturbações no metabolismo celular das áreas afetadas. Objetivos: Investigar a ação antitrombótica de extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* num modelo experimental *in vitro*. Metodologia: O plasma rico em plaquetas (PRP) será avaliado na presença e ausência (veículo) de extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii*. A avaliação da agregação plaquetária será realizada por turbidimetria. A medida da secreção plaquetária será por fluorescência. A avaliação da coagulação será realizada em sistema semi-automatizado de coagulação. O estudo dos possíveis mecanismos de ativação plaquetária será feito por avaliação dos receptores plaquetários por citometria de fluxo e pelo estudo do balanço redox por espectrofotometria.

(TEXTO DO PESQUISADOR)

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Estudar a ação antitrombótica extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* num modelo experimental *in vitro*.

Endereço:	Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros	Prédio das Pró-Reitorias	Hércules Maymone	1º andar
Bairro:	Pioneiros	CEP: 70.070-900		
UF:	MS	Município:	CAMPO GRANDE	
Telefone:	(67)3345-7187	Fax:	(67)3345-7187	
		E-mail:	cepconepr@ufms.br	



Continuação do Parecer: 6.885.031

Objetivo Secundário:

- 1 Avaliar o efeito de extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* sobre ativação plaquetária;
 - 2 Avaliar o efeito dos extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* sobre a agregação plaquetária;
 - 3 Avaliar o efeito dos extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* sobre a secreção plaquetária;
 - 4 Avaliar o efeito dos extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii* sobre a coagulação sanguínea.
 - 5 Investigar os possíveis mecanismos de ativação plaquetária por meio da :
Expressão de receptores plaquetários e espécies reativas de oxigênio (EROs);
Avaliação do balanço redox.
- (TEXTO DO PESQUISADOR)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

A retirada de sangue venoso é um método corriqueiro na investigação clínica e científica, sem graves consequências para o doador. Contudo é considerada uma técnica invasiva visto que a agulha penetra na pele até chegar na veia. O maior problema é uma leve dor, e o desconforto de agulhas e da punção; porém se houver qualquer desconforto, o participante tem o direito de desistir a qualquer momento. Em raras ocasiões pode ocorrer: hematomas (durante ou após a realização da punção venosa); punção em artéria; anemia iatrogênica (em casos de volumes maiores a 100 mL); lesão nervosa; infecção. Em caso de qualquer complicaçāo, o contratante dos pesquisadores arcará com as despesas produzidas pelo procedimento. O risco associado de quebra de sigilo aos dados do participante será minimizado por meio do uso somente de um número de identificação e somente os pesquisadores terão acesso aos dados.

Benefícios:

Não há benefício direto ao participante. Entretanto, a partir deste estudo poderá ser identificada uma nova biomolécula que pode beneficiar o tratamento de doenças cardiovasculares associadas à trombose.

(TEXTO DO PESQUISADOR)

Endereço:	Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros	Prédio das Pró-Reitorias	Hércules Maymone	1º andar
Bairro:	Pioneiros	CEP: 70.070-900		
UF:	MS	Município:	CAMPO GRANDE	
Telefone:	(67)3345-7187	Fax:	(67)3345-7187	E-mail: cepconep.prop@ufms.br



Continuação do Parecer: 6.885.031

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Estudo envolve coleta de amostras de sangue de doadores adultos (maiores de 18 anos) saudáveis, para ensaio de isolamento das plaquetas.

Estima-se amostra de 450 participantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados: Folha de rosto, projeto detalhado, TCLE, a utorização institucional

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências anteriormente listadas foram atendidas não restando mais impedimentos éticos à realização do estudo.

Projeto de pesquisa Aprovado

É de responsabilidade do pesquisador submeter ao CEP semestralmente o relatório de atividades desenvolvidas no projeto e, se for o caso, comunicar ao CEP a ocorrência de eventos adversos graves esperados ou não esperados. Também, ao término da realização da pesquisa, o pesquisador deve submeter ao CEP o relatório final da pesquisa. Os relatórios devem ser submetidos através da Plataforma Brasil, utilizando-se da ferramenta de NOTIFICAÇÃO.

Informações sobre os relatórios parciais e final podem acessadas em <https://cep.ufms.br/relatorios-parciais-e-final/>

Considerações Finais a critério do CEP:

CONFIRA AS ATUALIZAÇÕES DISPONÍVEIS NA PÁGINA DO CEP/UFMS

1) Regimento Interno do CEP/UFMS

Disponível em: <https://cep.ufms.br/novo-regimento-interno/>

2) Renovação de registro do CEP/UFMS

Disponível em: <https://cep.ufms.br/registro/>

3) Calendário de reuniões de 2024

Disponível em: <https://cep.ufms.br/calendario-de-reunoes-do-cep-2024/>

Endereço:	Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros	Prédio das Pró-Reitorias	Hércules Maymone	1º andar
Bairro:	Pioneiros	CEP: 70.070-900		
UF:	MS	Município:	CAMPO GRANDE	
Telefone:	(67)3345-7187	Fax:	(67)3345-7187	
		E-mail:	cepconepropp@ufms.br	



Continuação do Parecer: 6.885.031

4) Composição do CEP/UFMS

Disponível em: <https://cep.ufms.br/composicao-do-cep-ufms/>

5) Etapas do trâmite de protocolos no CEP via Plataforma Brasil

Disponível em: <https://cep.ufms.br/etapas-do-tramite-de-protocolos-no-cep-via-plataforma-brasil/>

6) Legislação e outros documentos: Resoluções do CNS.

Norma Operacional no001/2013. Portaria no2.201 do Ministério da Saúde. Cartas Circulares da Conep.

Resolução COPP/UFMS no240/2017.

Outros documentos como o manual do pesquisador, manual para download de pareceres, pendências frequentes em protocolos de pesquisa clínica v 1.0, etc.

Disponíveis em: <https://cep.ufms.br/legislacoes-2/>

7) Informações essenciais do projeto detalhado

Disponíveis em: <https://cep.ufms.br/informacoes-essenciais-projeto-detalhado/>

8) Informações essenciais à TCLE e TALE

Disponíveis em: <https://cep.ufms.br/informacoes-essenciais-tcle-e-tale/>

- Orientações quanto aos Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e aos Termos de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) que serão submetidos por meio do Sistema Plataforma Brasil versão 2.0.

- Modelo de TCLE para os participantes da pesquisa versão 2.0.

- Modelo de TCLE para os responsáveis pelos participantes da pesquisa menores de idade e/ou legalmente incapazes versão 2.0.

9) Biobancos e Biorrepositórios para armazenamento de material biológico humano

Disponível em: <https://cep.ufms.br/biobancos-e-biorrepositorios-para-material-biologico-humano/>

10) Relato de caso ou projeto de relato de caso? Disponível em: <https://cep.ufms.br/662-2/>

Endereço:	Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros à Prédio das Pró-Reitorias à Hércules Maymone à 1º andar		
Bairro:	Pioneiros	CEP:	70.070-900
UF:	MS	Município:	CAMPO GRANDE
Telefone:	(67)3345-7187	Fax:	(67)3345-7187
		E-mail:	cepconepr@ufms.br



Continuação do Parecer: 6.885.031

11) Cartilha dos direitos dos participantes de pesquisa

Disponível em: <https://cep.ufms.br/cartilha-dos-direitos-dos-participantes-de-pesquisa/>

12) Tramitação de eventos adversos

Disponível em: <https://cep.ufms.br/tramitacao-de-eventos-adversos-no-sistema-cep-conep/>

13) Declaração de uso de material biológico e dados coletados Disponível em:
<https://cep.ufms.br/declaracao-de-uso-material-biologico/>

14) Termo de compromisso para utilização de informações de prontuários em projeto de pesquisa

Disponível em: <https://cep.ufms.br/termo-de-compromisso-prontuarios/>

15) Termo de compromisso para utilização de informações de banco de dados Disponível em:
<https://cep.ufms.br/termo-de-compromisso-banco-de-dados/>

16) Orientações para procedimentos em pesquisas com qualquer etapa em ambiente virtual

Disponível em: <https://cep.ufms.br/orientacoes-para-procedimentos-em-pesquisas-com-qualquer-etapa-em-ambiente-virtual/>

17) Solicitação de dispensa de TCLE e/ou TALE

Disponível em: <https://cep.ufms.br/solicitacao-de-dispensa-de-tcle-ou-tale/>

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJECTO_2260252.pdf	06/06/2024 13:10:55		Aceito
Outros	RESOLUCAO.pdf	06/06/2024 11:44:12	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES BASILIO	Aceito
Outros	CARTARESPOSTA.pdf	06/06/2024 11:39:48	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES BASILIO	Aceito

Endereço: Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros - Prédio das Pró-Reitorias - Hércules Maymone, 1º andar

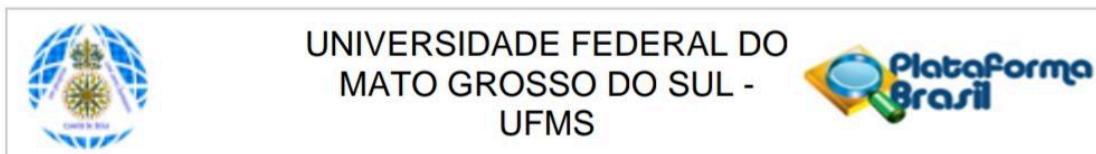
Bairro: Pioneiros **CEP:** 70.070-900

UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE

Telefone: (67)3345-7187

Fax: (67)3345-7187

E-mail: cepconep.prop@ufms.br



Continuação do Parecer: 6.885.031

Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROPOSTA.pdf	06/06/2024 11:39:00	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES BASILIO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	06/06/2024 11:38:51	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES BASILIO	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMAMES.pdf	06/06/2024 11:38:40	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES BASILIO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	MATERIALBIOLOGICO.pdf	23/12/2023 14:20:56	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.pdf	23/12/2023 14:19:56	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	23/12/2023 13:58:16	DENISE CAROLINE LUIZ SOARES	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 13 de Junho de 2024

Assinado por:
Fernando César de Carvalho Moraes
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros	Prédio das Pró-Reitorias	Hércules Maymone	1º andar
Bairro: Pioneiros	CEP: 70.070-900		
UF: MS	Município: CAMPO GRANDE		
Telefone: (67)3345-7187	Fax: (67)3345-7187	E-mail: cepconep.propr@ufms.br	

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

1

Anexo I – TCLE**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa

Efeitos biológicos de de extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii*

Eu, o pesquisador: Eduardo Benedetti Parisotto, convido(a) Sr.(a) a participar desta pesquisa que tem como objetivo: estudar a ação antitrombótica dos extratos de *Inga laurina* e *Selaginella sellowii*.

Envolvimento na pesquisa: Ao participar deste estudo o Sr.(a) permitirá que sejam coletados 5 mL de sangue venoso com seringa e agulha estéreis e descartáveis por um profissional autorizado e capacitado do laboratório didático de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas (LAC/FACFAN). As amostras de sangue serão utilizadas exclusivamente como reagentes (fonte de plasma rico plaquetas) para realização dos testes plaquetários e de coagulação e não serão utilizadas para obtenção de dados adicionais (realização de exames) do participante.

1. SOBRE A PESQUISA: Trata-se de uma pesquisa de caráter experimental com o objetivo de avaliar o possível efeito antitrombótico e anticoagulante dos produtos naturais citados acima.

2. CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Além disso, não serão realizados exames das amostras ou qualquer procedimento de identificação do participante. Não será realizada divulgação de dados que identifique o participante.

3. PAGAMENTO: O(a) Sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como não terá direito a nenhuma compensação financeira por sua participação, sendo sua colaboração na pesquisa livre e de espontânea vontade.

Rubrica do Participante: _____
Rubrica do Pesquisador: _____

4. RISCOS: A retirada de sangue venoso é um método corriqueiro na investigação clínica e científica, sem graves consequências para o doador. Contudo é considerada uma técnica invasiva visto que a agulha penetra na pele até chegar na veia. O maior problema é uma leve dor, e o desconforto de agulhas e da punção; porém se houver qualquer desconforto, o participante tem o direito de desistir a qualquer momento. Em raras ocasiões pode ocorrer: hematomas (durante ou após a realização da punção venosa); punção em artéria; anemia iatrogênica (em casos de volumes maiores a 100 mL); lesão nervosa; infecção. Além disso, no momento da coleta de sangue, o paciente poderá sentir tontura ou sensação de desmaio durante ou após a coleta de sangue, principalmente quando estiver ansioso ou não tiver se alimentado corretamente no dia da coleta. Em caso de qualquer complicaçāo **os pesquisadores arcarão** com as despesas produzidas pelo procedimento. O risco associado de quebra de sigilo aos dados do participante será minimizado por meio do uso somente de um número de identificação e somente os pesquisadores terão acesso aos dados.

5. BENEFÍCIOS: Como benefícios o participante receberá acompanhamento e orientação durante todo o decorrer da pesquisa com profissional habilitado. Entretanto, a partir deste estudo poderá ser identificada uma nova biomolécula que pode beneficiar o tratamento de doenças cardiovasculares associadas à trombose.

6. CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Além disso, não serão realizados exames das amostras ou qualquer procedimento de identificação do participante. As amostras coletadas não serão empregadas em qualquer outra pesquisa ou análise não prevista e autorizada pelo participante, e serão devidamente descartadas após os ensaios. Não será realizada divulgação de dados que identifique o participante.

7. ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: No decorrer da coleta da amostra biológica o participante receberá acompanhamento de profissional habilitado e em caso de intercorrências, fica assegurado ao participante assistência integral e imediata, pelo tempo necessário e custeada pelos **pesquisadores**.

Rubrica do Participante: _____
Rubrica do Pesquisador: _____

8. GARANTIA DE INDENIZAÇÃO: Assegura-se ao participante direito ao requerimento de indenização em caso de danos decorrentes da realização deste estudo.

9. RESSARCIMENTO DE GASTOS DECORRENTES DA PESQUISA: Ao participante e seu(s) acompanhante(s) fica assegurado o ressarcimento de todos os gastos que terão ao participar desta pesquisa.

O Sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o Sr.(a). Sempre que quiser, poderá pedir mais informações sobre a pesquisa por meio dos e-mails dos pesquisadores e do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul abaixo discriminados.

O participante possui a garantia de receber uma via deste termo e em caso de qualquer dano decorrente desta pesquisa terá direito à indenização.

Os dados obtidos por meio desta pesquisa serão mantidos em arquivo digital em posse dos pesquisadores responsáveis pelo período de 5 anos contabilizados a partir do encerramento da pesquisa e serão indisponibilizados ao fim deste prazo.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre e espontânea para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem.

Rubrica do Participante: _____
Rubrica do Pesquisador: _____

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Tendo em vista os itens acima apresentados de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa. Declaro que recebi cópia desse termo de consentimento, e autorizo e realização da pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Campo Grande, _____ / _____ / _____

Assinatura do participante da pesquisa

Eduardo Benedetti Parisotto

Laboratório de Análises Clínicas – LAC – Hematologia/LAC/FACFAN

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS

Campus Universitário 79070900 - Campo Grande, MS – Brasil- Telefone: (067) 3345-7962

e-mail: eduardo.parisotto@ufms.br, parisotto.edu@gmail.com

PARA MAIORES ESCLARECIMENTOS

Campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, prédio das Pró-Reitorias 'Hércules Maymone' – 1º andar, CEP: 79070900. Campo Grande – MS. e-mail: cepconeppropp@ufms.br; telefone: 3345-7187;

Atendimento ao público: 07:30-11:30 no período matutino e das 13:30 às 17:30 no período vespertino.