



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

ESTUDO FARMACOLÓGICO DA TERNATINA, UM FLAVONÓIDE ISOLADO
DE *Egletes viscosa*, LESS.

CÉLIO LIMA DE MELO

FORTALEZA

1991

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

ESTUDO FARMACOLÓGICO DA TERNATINA, UM FLAVONÓIDE ISOLADO
DE *Egletes viscosa*, LESS.

CÉLIO LIMA DE MELO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO
DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
FARMACOLOGIA, COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA - 1991

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de mestre em farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas de ética científica.

Célio Lima de Melo

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: / /

Prof. Vietla Satyanarayana Rao
Orientador

Prof. Manoel Odorico de Moraes Filho

Prof. Edilberto Rocha Silveira

Este trabalho é dedicado à minha mulher, aos meus filhos, aos meus pais e às minhas tias Cleonice e Gracy.

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas, direta e indiretamente, colaboraram na elaboração deste estudo. Em especial, gostaria de reafirmar e agradecer:

Ao Prof. Vietla Satyanarayana Rao, pela orientação e amizade.

Ao Prof. Edilberto Rocha Silveira, pelo isolamento da droga utilizada nesse trabalho.

Ao Prof. Manoel Odorico de Moraes Filho, pela participação no ensaio para a verificação do efeito antitumoral.

Ao Prof. Marcus Raimundo Vale, pelo incentivo ao mestrado.

Aos colegas José Clielder Rebouças da Silva e Viviane Calheiros Chaves, pela ajuda indispensável durante os ensaios farmacológicos.

À Prof^a Mary Anne Souza Lima, pela extração e purificação da droga.

Aos Profs. Glauce Socorro Barros Viana, Chefe do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e Manassés Claudino Fonteles, coordenador do Mestrado em Farmacologia.

Aos Profs. Raimundo Holanda Farias e Carlos Couto Castelo Banco, pela ajuda material, sem a qual não teria sido possível concluir este trabalho.

Aos meus colegas de turma, em especial César Silva Pontes e Fernanda Regina de Castro Almeida.

Aos Profs. Francisco José de Abreu Matos e Maria Elisa de Oliveira Matos, pelas informações valiosas.

Ao meu irmão Francisco Augusto Sales Veloso e ao amigo Osmar Onofre, pelas fotos e pelos desenhos.

À Prof^a. Rosália Maria Oliveira Corrêa Lima, da UFPE e à colega Cláudia do ó Pessoa, pelo ensaio de citotoxicidade.

À minha amiga Maria Sulamita de Almeida Vieira, pela correção de português.

À Prof^a. Neiva Francenely Cunha Vieira, pela ajuda na introdução.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia.

À bibliotecária Norma Carvalho Linhares, pelo levantamento bibliográfico.

Aos meus colegas do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, em especial à Prof^a. Zoraide Mendonça Tavares.

À Bolsista de Trabalho Lana Oliveira Leite pelo imenso cuidado na digitação deste documento.

À Prof^a Maria Goretti Rodrigues de Queiroz por disponibilizar local e equipamentos para a digitação deste trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| LISTA DE TABELAS | ix |
| LISTA DE FIGURAS | xi |
| RESUMO..... | xiii |
| | |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 1.1 Generalidades | 1 |
| 1.2 Flavonóides | 3 |
| 1.2.1 Flavonóides como Agentes Antiinflamatórios | 6 |
| 1.2.2 Flavonóides como Agentes Antihepatotóxicos | 9 |
| 1.2.3 Flavonóides como Agentes Antivirais | 10 |
| 1.2.4 Flavonóides como Agentes Antialérgicos | 11 |
| 1.2.5 Flavonóides como Agentes Antitumorais | 11 |
| 1.2.6 Efeitos Bioquímicos dos Flavonóides | 12 |
| 1.2.7 Usos Terapêuticos dos Flavonóides | 13 |
| 1.3 A Planta | 14 |
| 1.3.1 Descrição Botânica | 14 |
| 1.3.2 Informações Químicas | 16 |
| 1.3.3 Efeitos Farmacológicos | 16 |
| 1.3.4 Uso Popular | 18 |
| 1.4 Objetivos | 18 |
| | |
| 2. MATERIAL | 18 |
| 2.1 A Planta | 18 |
| 2.2 Animais Experimentais | 19 |
| 2.3 Soluções Fisiológicas | 19 |
| 2.4 Reagentes e Corantes | 20 |
| 2.5 – Drogas | 20 |

| | |
|--|----|
| 3. MÉTODOS | 21 |
| 3.1 Extração e Purificação da Ternatina | 21 |
| 3.2 Ação Antiinflamatória | 27 |
| 3.2.1 Inflamação Aguda-Edema da Pata Induzida por Carragenina em ratos | 27 |
| 3.2.2 Permeabilidade Capilar | 29 |
| 3.3 Atividade Analgésica | 29 |
| 3.3.1 Teste da Placa Quente | 29 |
| 3.3.2 Teste de “WRITHING” | 30 |
| 3.3.3 Atividade Antipirética da Ternatina em Ratos Hipertérmicos | 30 |
| 3.4 Ação Gastroprotetora | 31 |
| 3.4.1 Lesões Gástricas Induzidas por Etanol (99%) em Camundongos | 31 |
| 3.5 Efeitos da Ternatina sobre o Trânsito Gastrointestinal em Camundongos..... | 31 |
| 3.6 Efeito Hepatoprotetor da Ternatina sobre a toxicidade Induzida por Tetracloro de Carbono (CCl ₄) em Ratos | 31 |
| 3.6.1 Determinações Bioquímicas e Hematológicas | 32 |
| 3.7 Efeito da Ternatina sobre o Óleo Isolado de Cobaio | 33 |
| 3.8 Atividade Citotóxica | 34 |
| 3.8.1 Efeito da Ternatina sobre a Citotoxicidade em Cultura de Tecido | 34 |
| 3.9 Métodos Estatísticos..... | 35 |
| | |
| 4. RESULTADOS | 35 |
| 4.1 Ação Antiinflamatória | 35 |
| 4.1.1 Inflamação Aguda – Edema de Pata Induzido por Carragenina em Ratos..... | 35 |
| 4.1.2 Permeabilidade Capilar Induzida por Ácido Acético em Camundongos..... | 35 |
| 4.2 Atividade Analgésico..... | 37 |
| 4.2.1 Teste da Placa Quente | 37 |
| 4.2.2 Teste de “WRITHING” Induzido por Ácido Acético em Camundongos.... | 39 |
| 4.2.3 Atividade Antipirética da Ternatina em Ratos | 42 |
| 4.3 Ação Gastroprotetora | 42 |
| 4.3.1 Lesões Gástricas Induzidas por Etanol 99% em Camundongos | 42 |
| 4.4 Efeito da Ternatina sobre o Trânsito Gastrointestinal em Camundongos...42 | |

| | |
|--|----|
| 4.5 Efeito da Ternatina em Ratos Portadores de Lesões Hepáticas Induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl ₄)..... | 49 |
| 4.5.1 Avaliação do Tempo de Sono Barbitúrico em Ratos portadores de Lesões Hepáticas Induzida por CCl ₄ | 57 |
| 4.6 Efeito da Ternatina sobre o Óleo Isolado de Cobaio | 57 |
| 4.7 Atividade Citotóxica | 59 |
| 4.7.1 Efeito da Ternatina sobre a Citotoxicidade em Cultura de Tecido..... | 59 |
| | |
| 5. DISCUSSÃO | 68 |
| | |
| 6. CONCLUSÕES | 75 |
| | |
| 7. ABSTRACT..... | 77 |
| | |
| 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 79 |

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeito da Ternatina e da Indometacina no edema de pata induzido por carragenina em ratos (pág. 35).

Tabela 2. Efeito da Ternatina e do ácido Acetilsalicílico sobre a permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos (pág. 37).

Tabela 3. Efeito da Ternatina e Morfina no teste de placa quente em camundongos (pág. 40).

Tabela 4. Efeito da Ternatina e da Indometacina nas contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (pág. 41).

Tabela 5. Efeito da Ternatina e Paracetamol em hipertermia induzida por levedura de cerveja em ratos (pág. 43).

Tabela 6. Efeito da Ternatina nas lesões gástricas induzidas por etanol 99% em camundongos (pág. 45).

Tabela 7. Efeito da Ternatina sobre o trânsito gastrointestinal (TGI) em camundongos (pág. 47).

Tabela 8. Efeito da Ternatina sobre os níveis de alanina-aminotransferase sérica (ALT) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos (pág. 50).

Tabela 9. Efeito da Ternatina sobre os níveis de aspartato-aminotransferase sérica (AST) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos (pág. 51).

Tabela 10. Efeito da Ternatina sobre os níveis de fosfatase alcalina sérica (ALP) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos (pág. 52).

Tabela 11. Efeito da Ternatina sobre a concentração de bilirrubina total (BT) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos(pág. 53),

Tabela 12. Efeito da Ternatina sobre a concentração dos triglicerídeos séricos (TG) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos (pág. 54).

Tabela 13. Efeito da Ternatina sobre o tempo de protrombina plasmática (TP) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos (pág. 55).

Tabela 14. Avaliação do tempo de sono barbitúrico em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) (pág.58).

Tabela 15. Efeito da Ternatina sobre as contrações induzidas por agonistas por agonistas em íleo isolado de cobaio (pág. 61).

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classes dos flavonóides (pág. 5).

Figura 2. *Egletes viscosa*, Less – Fotografia de material cedido pelo Herbário Prisco Bezerra (pág. 15).

Figura 3. Estrutura química da Ternatina (pág. 17).

Figura 4. Purificação do extrato hexânico-etanólico de *Egletes viscosa* e isolamento da Ternatina (pág. 22).

Figura 5. Espectro na região do infravermelho em KBr da Ternatina (pág. 23).

Figura 6. Espectrometria de massa da Ternatina (pág. 24).

Figura 7. Espectro de ressonância magnética nuclear protônica (RMN¹H) em CDCl₃ da Ternatina (300MHz) (pág. 25).

Figura 8. Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN¹³C) em CDCl₃ da Ternatina (75MHz) (pág. 26).

Figura 9. Pletismógrafo (pág. 28).

Figura 10. Efeito da Ternatina e do ácido Acetilsalicílico (AAS) sobre a permeabilidade capilar induzida por ácido acético em camundongos (pág. 36).

Figura 11. Atividade antipirética da Ternatina e do Paracetamol sobre a hipertermia provocada por levedura de cerveja em ratos (pág. 44).

Figura 12. Lesões gástricas induzidas por etanol 99% em camundongos (pág. 46).

Figura 13. Efeito preventivo da Ternatina a lesões gástricas em camundongos (pág. 46).

Figura 14. Efeito preventivo da Ternatina sobre o trânsito gastrointestinal em camundongos (pág. 48)

Figura 15. Efeito da Ternatina em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por tetracloreto de carbono (CCl_4) em 24 e 192 horas (pág. 56).

Figura 16. Avaliação do tempo de sono barbitúrico em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl_4) (pág. 60).

Figura 17. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por agonistas em íleo isolado de cobaio (pág. 62).

Figura 18. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6}\text{M}$) em íleo isolado de cobaio (pág. 63).

Figura 19. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Histamina ($0,28 \times 10^{-7}\text{M}$) em íleo isolado de cobaio (pág. 64).

Figura 20. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Serotonina ($0,28 \times 10^{-7}\text{M}$) em íleo isolado de cobaio (pág. 65).

Figura 21. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Clloreto de Bário ($0,20 \times 10^{-6}\text{M}$) em íleo isolado de cobaio (pág. 66).

Figura 22. Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6}\text{M}$) em íleo isolado de cobaio (pág. 67).

RESUMO

Ternatina (5,4'-dihidroxi-3, 7, 8, 3'-tetrametoxi-flavona), um bioflavonóide isolado de *Egletes viscosa*, Less (Compositae), foi estudado frente a vários efeitos farmacológicos em animais experimentais.

O composto (15 e 30 mg/kg, i.p.) demonstrou de forma dose-dependente um efeito antiinflamatório significativo no edema de pata induzido por carragenina. Neste modelo, a indometacina (5 mg/kg, v.o.), uma conhecida droga antiinflamatória não esteróide, demonstrou maior potência que a Ternatina. Com doses semelhantes às anteriores, o bioflavonóide reduziu efetivamente o aumento da permeabilidade capilar provocada por ácido acético em camundongos, propriedade comum para muitos flavonóides.

Nesses mesmos animais, a Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) não demonstrou atividade sobre o tempo de reação no modelo da placa quente de Eddy ($55\pm 1^{\circ}\text{C}$). Porém, no teste de "WRITHING" induzido por ácido acético, o composto reduziu significativamente o número de contorções abdominais de maneira dose-dependente, indicando ter uma possível propriedade analgésica periférica.

A substância em estudo também mostrou atividade antipirética em ratos no modelo de piroxia provocada por leveduras de cerveja. Este efeito, com dose de 30 mg/kg, via intraperitoneal, foi quase equivalente ao produzido por paracetamol (250 mg/kg, v.o.).

A propriedade gastroprotetora da Ternatina foi evidenciada no modelo experimental de hipertermia gástrica aguda provocada por etanol 99% em camundongos. A Ternatina, nas doses de 30 e 60 mg/kg, via intraperitoneal, reduziu significativamente o desenvolvimento das mudanças hiperêmicas induzidas por etanol no estômago. Essa droga (30 mg/kg, i.p.) também demonstrou um possível efeito hepatoprotetor ao diminuir de forma significativa a atividade da alanina-aminotransferase (ALT) sérica nas lesões do fígado provocadas por tetracloreto de carbono (CCl_4) em ratos.

Nos animais tratados com Ternatina (30 mg/kg, i.p.) durante 8 dias consecutivos, o tempo de sono induzido por pentobarbital sódico foi significativamente maior que o do grupo controle, mostrando um provável efeito

depressor do flavonóide sobre o metabolismo enzimático de drogas no fígado e/ou em outros sistemas orgânicos.

A Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) inibiu de forma dose-dependente o trânsito gastrointestinal em camundongos. Além disso, o composto (10 e 40 µg/mL no banho) produziu uma eficaz e reversível inibição das respostas contráteis causadas por diversos agonistas (acetilcolina, histamina, serotonina e cloreto de bário) em íleo isolado de cobaio. A inibição mostrou-se inespecífica e foi revertida por um aumento da concentração de cálcio no banho, implicando que a Ternatina afeta os processos celulares dependentes desse íon. Em células KBr, a substância estudada evidenciou baixa citotoxicidade. A concentração efetiva da droga necessária para inibir o crescimento celular (CyED₅₀) foi de 100 µg/mL.

A Ternatina e o extrato bruto de *Egletes viscosa*, também exibiram baixa toxicidade geral. Os resultados obtidos no presente estudo como os compostos, juntamente com a atividade antiviral descrita contra poliovírus e adenovírus, sugerem que ela deve ser um dos principais componentes ativos de *Egletes viscosa* e, portanto, a base científica para comprovar o intensivo uso do extrato bruto da planta em medicina popular no tratamento dos distúrbios gastrointestinais.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

O homem primitivo já experimentava as plantas tanto para a sua alimentação como para fins terapêuticos, fazendo ele mesmo um processo de seleção, rejeitando algumas por serem prejudiciais à sua saúde pela sua toxicidade e assim acumulando e transmitindo a experiência adquirida com o passar do tempo.

A sobrevivência humana, expressa pelo conhecimento da cultura do arroz, do trigo, do milho, tem demonstrado até então que o aprendizado com base na metodologia dos erros e acertos tem sido ao longo dos anos, o caminho para descobertas fundamentais no campo de aplicação terapêutica das plantas.

No caso das ervas portadoras de propriedades farmacológicas e terapêuticas, foram na sua maioria descobertas ao acaso ou empiricamente. A medicina popular, portanto, é responsável pelo desenvolvimento e uso de inúmeros e valiosos remédios, hoje ainda empregados na medicina científica, como os digitálicos, a atropina, a morfina, a cafeína, a trombina.

No Brasil, a utilização de plantas com propósitos curativos tem sua origem inicialmente na cultura dos indígenas, posteriormente através dos conhecimentos trazidos da África pelos negros e, finalmente, por meio dos imigrantes.

Em todas as regiões do Brasil, o uso de plantas medicinais nas suas mais diversas formas, tornou-se uma prática comum, desenvolvida por todas as camadas da sociedade, especialmente pelas populações submetidas a privações sociais e econômicas. Em conseqüência, a falta de acesso aos serviços de saúde faz com que as pessoas de baixa renda, ao serem acometidas por doenças, procurem na própria natureza alternativas para a cura dos seus males através da auto-medicação.

Não devemos esquecer, porém, que o uso popular e secular das plantas medicinais ratifica a validade dessa prática, independentemente da comprovação científica.

Outros indicadores que comprovam o intenso uso das plantas medicinais são os livres comércios realizados em locais públicos como feiras, mercados e farmácias, o

alto custo dos remédios fabricados pelas indústrias farmacêuticas, o modismo da população no que diz respeito ao uso preferencial de produtos naturais. Acrescente-se ainda que essa prática seja estimulada pelos diversos meios de comunicação através do livre “marketing” em torno desses recursos, induzindo a população ao uso indiscriminado de plantas medicinais.

No Brasil, assim como em outros países, faz-se necessária a alocação de mais recursos financeiros destinados ao desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de estabelecer bases científicas para confirmar ou refutar o uso popular e empírico das plantas medicinais.

Nesse sentido, a comprovação das propriedades terapêuticas das plantas, através de recursos laboratoriais, representa a síntese dos conhecimentos empíricos e científicos.

Nenhum país do mundo abriga uma flora tão rica e variada como o Brasil. Segundo Rizzo (sd), a investigação desses ervanários se justifica, dado que no Brasil há mais de 120 mil espécies de plantas, sendo que apenas um pequeno percentual é usado em função dos seus efeitos terapêuticos.

O planejamento da assistência de saúde no Brasil requer confrontar uma série de situações que direciona o país nas tomadas de decisões, considerando sua estrutura política e econômica. O Brasil, com um consumo anual de 1,6 bilhão de dólares, com 3.500 substâncias compondo 35.000 tipos de remédios, é hoje o sétimo mercado mundial de medicamentos. Acrescente-se a esta situação uma população estimada em 135 milhões de habitantes, onde apenas 40 milhões têm acesso às especialidades farmacêuticas (FALCÃO, *et al.*, 1988).

Estudos e pesquisas têm sido incentivados e patrocinados por órgãos como a OMS (Organização Mundial de Saúde) a nível internacional e CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CEME (Central de Medicamentos), FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), Fundação ABIF (Associação Brasileira de Indústria Farmacêutica) de Pesquisa em Biociências e por fundos de pesquisas de Institutos e Universidades a nível nacional (VALLE, 1978; MATOS, 1981).

A Conferência de Alma-Ata, realizada em 1978 na União Soviética, recomenda como estratégia para os países em desenvolvimento, a utilização de tecnologias apropriadas que garantam um grau de saúde aceitável e socialmente justo.

A medicina caseira tem sido apontada como um dos caminhos para a extensão dos serviços de saúde à população, desde a III e IV Reunião dos Ministros das Américas (1972 e 1977).

SINGER (1978) e VIEIRA & SABOIA (1982) ao referirem-se à medicina popular ou tradicional, a colocam dentro de critérios de não cientificidade, sendo ela ainda considerada ilegítima, uma vez que se constitui no recurso da classe social menos privilegiada que dela se utiliza baseada na tentativa e erro.

Uma alimentação sadia e rica do ponto de vista nutritivo seria sem dúvida fator de prevenção contra doença tais como diarreias, desidratação, gastroenterites e distúrbios respiratórios.

Vale ressaltar que grande parte dos problemas de saúde das populações carentes repousa nos patamares de medidas simples e de baixo custo operacional. Utilizar recursos provenientes da natureza é um meio, que, conjugado à pesquisa científica, garante e responde à acessibilidade da comunidade aos serviços e à simplicidade na resolução dos problemas. Isso não se traduz em uma medida de discriminar a assistência de saúde entre pobres e ricos. A simplicidade dos meios corresponde à simplicidade dos problemas e não à simplicidade das pessoas (CUNHA, 1987). Pesquisa realizada na zona norte da cidade de Londrina - Paraná relata que 76,5% (306) da população utilizam remédios caseiros na forma de chás como digestivos, tranquilizantes e expectorantes (FALCÃO *et al.*, 1988), demonstrando que a medicina popular tem espaço e legitimidade dentre os recursos de que dispõe a população sendo, portanto, uma alternativa terapêutica, desde que estudos sejam realizados para racionalizar o seu uso.

1.2 Flavonóides

Os flavonóides são compostos químicos naturais, derivados de 2-fenilcromona, largamente encontrados no reino vegetal. Aproximadamente 3.000 tipos de flavonóides já

foram identificados e novas estruturas estão sempre sendo descobertas e relatadas. Estas substâncias estão presentes nos vegetais em geral, frutos, grãos, caule, folhas e flores e são responsáveis em parte pelas cores existentes na natureza (HERMANN, 1976). Elas são também importantes para o crescimento normal da planta, bem como no desenvolvimento e defesa contra lesões e estados infecciosos (DENNO *et al.*, 1983; WOOD *et al.*, 1984). Constituem o princípio ativo de muitas plantas medicinais, sendo utilizadas em várias partes do mundo.

Os flavonóides ocorrem na natureza como agliconas livres, glicosídios e derivados metilados (KÜHNAU, 1970; HARBONE *et al.*, 1975). As diversas classes de flavonóides e suas estruturas químicas estão representadas na figura 1.

As agliconas de todos os flavonóides são formadas por um anel benzênico (A), ligado a um anel de 6 átomos (C), o qual, na posição do carbono 2, liga-se a um grupamento fenil (B). O anel benzênico mais o anel de 6 átomos formam o composto γ -pirona (flavonóis e flavonas) ou seus dihidroderivados. A posição do grupamento fenil classifica o composto acima referidos em flavonóides (quando ligado na posição 2) e isoflavonas (quando ligado na posição 3). Os flavonóis diferem das flavonas por possuírem um grupamento hidroxila na posição 3 e uma dupla ligação entre C₂ e C₃. Os flavonóides são freqüentemente hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 3', 4' e 5'. Éteres metílicos e derivados acetilados dos grupos enólicos são conhecidos por suas ocorrências na natureza. Quando os flavonóides glicosídicos são sintetizados pelos vegetais, o carboidrato ligado está localizado normalmente nas posições 3 ou 7, podendo ser L-ramnose, D-glicose, glico-ramnose, galactose ou arabinose (KÜHNAU, 1970).

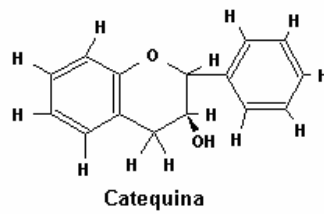
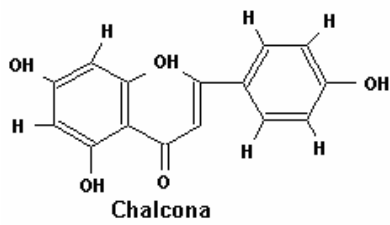
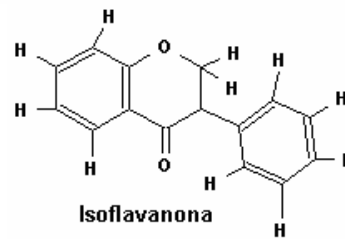
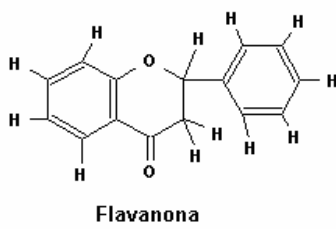
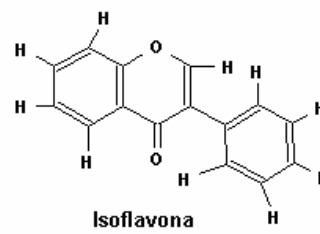
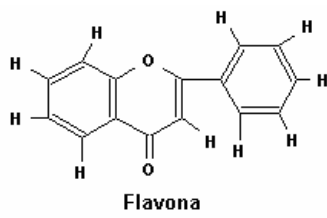
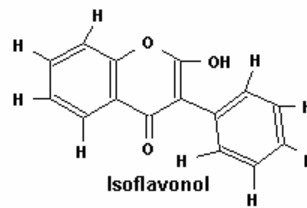
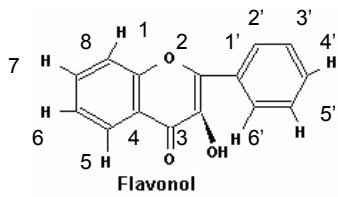


FIGURA 1 – Classes dos flavonóides.

1.2.1 Flavonóides como Agentes Antiinflamatórios

Os produtos da classe dos flavonóides como agentes antiinflamatórios, têm provocado grande interesse junto aos estudiosos do assunto, em virtude de oferecerem algumas vantagens sobre as drogas antiinflamatórias clássicas. Eles proporcionam uma grande margem de segurança, poucos efeitos colaterais, tais como ulcerogenicidade (GUPTA *et al.*, 1971; HAVSTEEN, 1983). Além disso, alguns compostos são portadores de efeito protetor contra úlceras experimentalmente induzidas em animais de laboratório (VILLAR *et al.*, 1984), sugerindo que a associação de flavonóides e drogas antiinflamatórias não esteróides podem diminuir o perigo das lesões gastrointestinais (PARMAR & GHOSH, 1981).

As ações antiinflamatórias dos flavonóides foram analisadas por Garbor (1972 e 1979) e Alcaraz & Jiménez (1987). As ações benéficas dos flavonóides, tanto na manutenção como na restauração da parede dos vasos, também já são conhecidas (RUSZNYAK & SZENT- GYORGYI, 1936). Como o aumento da permeabilidade vascular pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da reação inflamatória (HURLEY, 1972), estes compostos podem possuir atividade antiinflamatória, existindo sobre esta afirmativa uma controvérsia evidenciada por alguns estudos clínicos e experimentais. Rinehart (1955) relatou os efeitos benéficos dos flavonóides na artrite reumatóide e Carvel & Halperin (1961) descreveram as ações proveitosas da vitamina P, extraída de frutas cítricas, nos processos inflamatórios gengivais. Alguns trabalhos têm mostrado que os bioflavonóides podem evitar o aumento da permeabilidade capilar induzida pela injeção local de histamina, serotonina, bradicinina, leucotaxina e prostaglandinas (LOCKETT & JARMAN, 1958; VAAN CAUWENBERGE *et al.*, 1969; PARMAR & GHOSH, 1978). Aumentos semelhantes na permeabilidade capilar produzida por calor, raios X e ultravioleta podem ser significativamente reduzidos pela administração prévia de flavonóides (BOHR *et al.*, 1949; GABOR, 1972a; PARMAR & GHOSH, 1977).

GUPTA (1971) descreveu a atividade antiinflamatória da taxifolina, um flavonóide extraído da *Madhuca butyracea*. Os efeitos deste composto (40 mg/kg, i.p.) e da hidrocortisona foram estudados no edema induzido por carragenina, na artrite

provocada por formaldeído e na formação do tecido de granulação causada por “pellets” de algodão em ratos. A taxifolina exibiu uma significativa atividade antiinflamatória, semelhante à da hidrocortisona nos testes acima mencionados.

As propriedades antiinflamatórias da gossypina (Gossypetina-8-glicosídeo), um flavonóide isolado das flores de *Hibiscus vitifolius* foram estudadas por Parmar & Ghosh (1978), as quais demonstraram uma diminuição significativa do edema de pata e do aumento da permeabilidade capilar provocada por vários agentes flogísticos nas doses de 50 a 100 mg por via intraperitoneal. Gossypina produziu também uma significativa inibição do acúmulo de líquidos e na formação do tecido de granulação induzidos por carragenina em ratos, podendo ser atribuída à diminuição da síntese de colágeno. A migração leucocitária e a formação de exsudato pleural foram também significativamente reduzidas após pré-tratamento com esse flavonóide no edema de pata induzido por carragenina e pleurisia causada por terebentina em ratos. Da mesma forma, Gossypina mostrou-se eficaz contra a artrite provocada por adjuvante e formaldeído em ratos.

Os flavonóides antiinflamatórios brasileira e hematoxilina foram isolados de *Caesalpinia sappan*, L. e *Haemotoxin campechianum*, L. (HIKINO *et al.*, 1977). As investigações realizadas com esses compostos mostraram que eles podiam inibir o edema de pata por carragenina de forma dose-dependente.

Blazsó & Gabor (1980) relataram o efeito inibidor da procyanidina, isolada de uvas maduras, sobre o edema, o qual foi duas vezes maior que o da fenilbutazona. Esse dímero molecular foi sintetizado a partir de (+) - catequina e (-) - epicatequina.

A atividade antiedematogênica de (-) - epicatequina, isolada de *Anacardium occidentale*, Linn (Anacardiaceae) no edema de pata induzido por carragenina (ID₅₀ = 74 mg/kg, i.p.), no granuloma provocado por “pellet” de algodão e na artrite causada por coadjuvante, foi inicialmente observada por SWARNALAKSHMI *et al.*, (1981) e posteriormente por OTSUKA *et al.*, (1982), que utilizou um extrato aquoso-metanólico obtido de *Cinnanomum sieboldii*, Meissen (Lauraceae).

A atividade do flavonóide glicosídico nepitrina, isolado de *Nepeta hindostana* foi bem descrita por AGARVAL (1982). Essa substância, nas doses de 20 e 40 mg/kg, via intraperitoneal, inibiu o edema de pata provocado por carragenina em 54% e 65%,

respectivamente, em ratos. Fourie & Snyckers (1984) investigaram a atividade do éter dimetílico da apigenina isolada da raiz de *Rhus undulata*, Jacq. var. *undulata* (Anacardiaceae) e demonstraram o efeito sobre o edema de pata induzido por carragenina em ratos ($ED_{25} = 75$ mg/kg, i.p.). Outro derivado da apigenina, conhecido por vitexina, isolado das flores de *Ochocarpus longifolius*, L. e *Arnebia hispidissima*, Dc. (Boraginaceae) também demonstrou ser ativo sobre o edema de pata de rato provocado por carragenina (PRABHAKAR *et al.*, 1981).

Extratos de várias espécies do gênero *Sideritis* (Lamiaceae) são usados na medicina popular da Espanha como agentes antiinflamatório e anti-reumático. Um novo flavonóide glicosídico, hypolaetina-8-glicosídeo foi isolado de *Siderites mugronensis*, demonstrando possuir atividades antiinflamatória e gastroprotetora em ratos (VILLAR *et al.*, 1984). Agliconas de flavonóides inibiram de maneira dose-dependente as enzimas 15-lipoxigenase da soja e a fosfolipase do veneno de cobra (ALCARAZ & HOULT, 1985). Siderito flavona, isolado de *Sideritis leucantha* produziu uma inibição do edema de pata induzido por carragenina em camundongos.

Apigenina e luteolina, descritas como sendo os compostos mais ativos entre os flavonóides isolados de *Chamomila recutita*, foram comparados à indometacina (DELLA LOGGIA *et al.*, 1986).

Algumas agliconas de flavonóides, incluindo fisetina, quercetina e kaempferol, foram descritos com antiinflamatórios (GABOR *et al.*, 1984) nos modelos de edema induzidos por carragenina e óleo de croton em granuloma causado por “pellet” de algodão. Muitos dados sobre o mecanismo de ação da quercetina existem na literatura. Quercetina e kaempferol inibem a liberação de histamina dos mastócitos (BENNET *et al.*, 1981). Quercetina inibe também as funções dos neutrófilos, tais como liberação de enzimas lisossomais, consumo de oxigênio, síntese de radicais livres e quimiotaxia (BERTON *et al.*, 1980; BUSSE *et al.*, 1984). Além do mais, também exercem influência inibitória sobre a cicloxigenase dos rins de rato e da vesícula seminal de carneiro, a lipoxigenase do óleo de soja (ALCARAZ & HOULT, 1985), a 12-lipoxigenase das plaquetas humanas (LANOLFI *et al.*, 1984), a 5-lipoxigenase das células da leucemia basofílica (MASTER *et al.*, 1985) e a fosfolipase A_2 dos neutrófilos humanos (LEE *et al.*, 1982).

Entre os flavonóides glicosídicos da quercetina, a rutina foi exaustivamente estudada, sendo de ação efetiva no edema de pata de rato induzido por polivinil pirrolidona (100 mg/kg, i.v.), histamina, serotonina, clara de ovo ou kaolin (500 mg/kg, v.o.), no edema traumático em ratos (300 mg/kg, v.o.), na inflamação hiper-imune e no granuloma causado por “pellet” de algodão em ratos (GABOR & ENGI, 1984). Além disso, quercetina, quercetina-3-ramnoglicosídeo e rutina-3-galactosídeo foram descritos como sendo os princípios antiinflamatórios de *Wrighitia tinctoria* (Apocynaceae) e as flores de *Delonix elata*, Gamble, (Leguminosae) ativas no edema por carragenina.

Outro flavonol encontrado na natureza, o kaempferol, o kaempferol, bem como o 7-ramnosídeo e 3,7-diramnosídeo inibiram as fases exsudativas e proliferativas do granuloma causado por “pellet” de algodão (GARBOR, 1979). O glicosídeo kaempferol, conhecido por robinina, isolado de *Robinia pseudacacia*, L. (Leguminosae) demonstrou também propriedades antiinflamatórias (LIPKAN *et al.*, 1981).

Entre os flavononas, bavachinina A, isolada das sementes de *Psoralea corylifolia*, Linn (Leguminosae) exibiu efeitos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos (ANAND *et al.*, 1978). Naringenina e o derivado 7-glicosídeo demonstraram atividade inibitória sobre as fases exsudativas e proliferativas do granuloma induzido por “pellet” de algodão (GARBO, 1979).

O isoflavona glicosídeo, genistina, presente nas espécies do gênero *Genista* (Leguminosae), demonstrou ser ativo no edema provocado por dextran e levedura de cerveja, bem como no granuloma causado por “pellet” de algodão (ILARIONOV *et al.*, 1979). Todavia, foi relatada uma discreta atividade sobre a permeabilidade capilar em ratos, enquanto que prunetrina demonstrou potente efeito sobre a resistência dos vasos capilares (RAINOVA & GAKHNIYAN, 1978).

1.2.2 Flavonóides como Agentes Antihepatotóxicos

A primeira demonstração de que certos flavonóides exerciam atividade antihepatotóxica partiu de HAHN *et al.*, (1968), que investigou o composto flavonalignana silybina extraído de *Silibum marianum* em alguns modelos de lesões hepáticas. Cianidol [(+)-cianidanol-3, (+)-catequina] é um flavonóide natural que tem

demonstrado proteção contra esteatose do fígado induzida por ácido orótico e álcool etílico em ratos (GAJDOS *et al.*, 1972) e contra toxicidade provocada por CCl₄, galactosamina, etionamina, naftil-isotiocianato e oxigênio hiperbárico (BERTELLI, 1975; PERISSOUD *et al.*, 1985). WAGNER *et al.*, (1985) demonstraram a propriedade hepatoprotetora da butirina e isobutirina, flavonóides isolados de *Butea monosperma* (Leguminosae), coumestano, wedelolactona e dimetil wedelolactona de *Eclipta alba* e *Wedelia calendulacea* (Compositae). A ação hepatoprotetora de vários flavonóides e cumarinas isolados dos botões (flores) de *Artemisia cappilaris* foi descrita por KISO *et al.*, (1984). Dentre eles, os flavonóides scapilarisina e quercetina e a substância cumarina esculetina dimetil-éter são mais eficazes na proteção contra CCl₄ e galactosamina nos modelos de lesões no fígado.

1.2.3 Flavonóides como Agentes Antivirais

Os flavonóides de ocorrência natural com atividade antivírus são conhecidos há aproximadamente 40 anos. Quercetina, por exemplo, tem efeito profilático quando administrada à dieta de camundongos infectados por via intracerebral com o vírus atenuado da raiva, além de outros (CUTTING, 1953). Um princípio ativo antiviral do extrato de folhas secas de carvalho e do ácido tânico foi relatado por BÉLADI *et al.*, (1965). A atividade antipicornavírus de 4', 5-hidroxi-3,3', 7'-trimetoxi-flavona (RO – 0179), isolado de uma erva medicinal chinesa, *Agastache folium* (Lamiaceae) foi descrita por ISHITSUKA *et al.*, (1982a). Outro flavonóide (3-metoxi-flavona) retirado do caule de *Euphorbia grantii* (Euphorbiaceae) possui extraordinária atividade contra os vírus picorna e da estomatite vesicular (VAN HOOFF *et al.*, 1984). Recentemente, SIMÕES *et al.*, (1990) descreveram a atividade antipicornavírus da Ternatina (5,4'-dihidroxi-3, 7, 8, 3'-tetrametoxi-flavona) isolada de *Evodia madagascariensis*, Baker (Rutaceae). O mecanismo antiviral envolve a ligação efetiva da molécula do flavonóide com o ácido nucléico e o envoltório protéico e conseqüente inibição da replicação do vírus (ISHITSUKA *et al.*, 1982b). A presença do grupamento metoxi da função carbonila e da dupla ligação entre C₂-C₃ parece ser necessária para conferir ao flavonóide a ação antiviral (SIMÕES *et al.*, 1990b).

1.2.4 Flavonóides como Agentes Antialérgicos

Estudos sobre os compostos com estrutura do tipo flavona (cromona) indicam a existência de efeito antialérgico, visto que é reconhecida a ação farmacológica da khellina (dimetoxi-metilfurano-cromona) isolada das sementes de *Ammi visgana* (Apiaceae). No esforço de melhorar as propriedades relaxantes da khellina sobre a musculatura lisa, eliminando os seus efeitos colaterais, foi sintetizada uma série de ácidos cromona-2-carboxílicos, sendo que um destes compostos, conhecido como FPL-670 (cromoglicato dissódico), apresentou eficácia no tratamento da asma brônquica e outras doenças alérgicas (CHURCH, 1978).

Baicaleína, uma outra flavona contida nas raízes de *Scutellaria baicalensis*, Georgi, (Lamiaceae) exibiu um efeito inibitório sobre as reações de hipersensibilidade por suprimir a atividade de lipoxigenase plaquetária (SEKIYA & OKUDA, 1982).

1.2.5 Flavonóides como Agentes Antitumorais

Há pouco tempo foi relatado que alguns flavonóides são portadores de propriedades citotóxicas e antineoplásicas (SUOLINNA, 1975 e MIDDLETON, 1984). Estas substâncias demonstraram atividade inibitória “*in vivo*” e “*in vitro*” em tumor provocado por teleocidina, além de incorporação de Pi_{32} no interior dos fosfolipídios, a receptação de 2-desoxi-D-glicose, a indução da atividade da ornitina descarboxilase (ODC) na pele de camundongos, a ativação da proteína quinase C e a agregação de plaquetas humanas (FUJIKI *et al.*, 1984). Quercetina mostrou efeito inibidor sobre tumor induzido por teleocidina, iniciado com 7,12-dimetilbenz (a) antraceno (DMBA). As bioflavonas neochamaejasmina A e isochamaejasmina, isoladas das raízes de *Stellaria chamaejasme*, L. (Thymelaeaceae) foram capazes de inibir a indução de ODC e a ativação da proteína quinase C induzidas por teleocidina (NIWA *et al.*, 1984). A (-) epigallocatequina gallate, principal constituinte do chá verde, diminuiu o tumor promovido por teleocidina na pele de camundongos (YOSHIZAWA *et al.*, 1987) e a carcinogênese induzida por N-etil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina em duodeno de camundongo (FUJITA *et al.*, 1989). Mais recentemente, YOSHIZAWA *et al.*, 1987

descreveram o efeito da morusina, um flavonóide isoprenilado, extraído e isolado da casca de *Morus alba*, L. (Moraceae) sobre o tumor provocado por teleocidina.

1.2.6 Efeitos Bioquímicos dos Flavonóides

Os flavonóides são conhecidos por promoverem a inibição de diversas enzimas, tais como hialuronidase, histidina descarboxilase, colina acetilase, xantina oxidase, catecol-o-metil transferase, Na⁺, K⁺ ATPase, AMPc-fosfodiesterase, B-galactosidase, lipase, H⁺ ATPase lisossomal e de membranas granulares, DOPA-descarboxilase, aldose redutase, hexoquinase, lipoxigenase e cicloxigenase (HAVSTEEN, 1993). Kaempferol, quercetina, rhamnetina, apigenina e luteolina são potentes inibidores da atividade da AMPc-fosfodiesterase (BERETZ *et al.*, 1978). Grande número de atividades farmacológicas dos flavonóides, tais como vasodilatação, antiespasmódica, antiinflamatória, antiasmática e inibição das células de crescimento podem ser na teoria, secundárias por conta da inibição da fosfodiesterase e conseqüente aumento nos níveis do nucleotídeo cíclico.

CUTRONEO *et al.*, (1972) relatam que algumas flavonas eram capazes de induzir a enzima benzopireno hidroxilase em preparações no fígado fetal de ratos, observação que pode explicar a inibição do efeito carcinogênico do benzopireno. A inativação da Na⁺, K⁺ ATPase pelos flavonóides pode diminuir a taxa de glicólise, a qual está acelerada em alguns tipos de tecidos cancerosos (CARPENEDO *et al.*, 1969). VARMA *et al.*, (1975) informaram que os flavonóides são inibidores da aldose redutase do cristalino. As flavonas, particularmente as polihidroxi-flavonas, parecem ter maior potência. A aldose redutase está envolvida na etiologia da catarata (KINOSHITA, 1974). Quercetina (VARMA *et al.*, 1977) e gossypina (PARMAR & GHOSH, 1979) mostraram-se efetivas na inibição de catarata em animais experimentais.

O bloqueio da atividade da fosfolipase A₂, lipoxigenase e cicloxigenase pelos flavonóides, pode ter relevância quanto aos seus efeitos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos (BAUMANN *et al.*, 1980; LEE *et al.*, 1982; MEYERS & COFFEY, 1984).

FEWTRELL & GONPERTS (1977a, 1977b) demonstraram que flavonas tipo quercetina, fisetina, myricetina e kaempferol afetam a eficiência do transporte de

membrana da ATPase e também previnem o influxo de Ca^{++} para o interior dos mastócitos e assim inibem a degranulação e liberação da histamina.

Os flavonóides possuem uma forte afinidade por íons metálicos bivalentes, tais como ferro, cobre e zinco e por essa razão atuam como potentes antioxidantes e quelantes de metais (SWAIN, 1986). Os flavonóides, particularmente as isoflavonas naturais, podem ligar-se ao receptor de estrogênio e produzir efeito estrogênico em animais que se alimentam com vegetais ricos em flavonóides (genisteína e coumesterol) (SETCHEL *et al.*, 1984).

Alguns flavonóides tais como kaempferol, quercetina e galangina demonstraram possuir potenciais mutagênicos (BROWN *et al.*, 1977). Contudo, nenhum efeito colateral sério foi observado com o uso de flavonóides em doses moderadas, menores que 1 g/dia/paciente adulto (LAHUN & PERUCKER, 1975).

1.2.7 Usos Terapêuticos dos Flavonóides

Até agora, foram poucos os experimentos clínicos controlados, desenvolvidos para a verificação do uso de flavonóides em doenças bem definidas, tanto como substâncias puras como em misturas (PARMAR & GHOSH, 1980).

Os bioflavonóides têm sido clinicamente utilizados com limitado sucesso em várias situações caracterizadas por hemorragias associadas ao aumento da fragilidade capilar. A utilidade terapêutica desses compostos foi mostrada em hemorragia gastrointestinal, exposição a radiações, abortos habituais, doença hemolítica perinatal (DHPN), menorragia, cistite hemorrágica, doença periodontal, doença de Meniere, epistaxes, desordens oftálmicas, retinopatias, hemorróidas e síndrome de Raynaud. Frequentemente eles são combinados com vitamina K, ácido ascórbico e adrenocromo em várias especialidades farmacêuticas como comprimidos e injeções anti-hemorrágicos.

Hidroximetil rutosídeo e hesperidina mostraram eficiência no alívio dos sintomas causados por insuficiência venosa crônica dos membros inferiores (ROSE, 1970) e nas varizes da gravidez (BERGSTEIN, 1975). O (+)-cyanidanol-3 tem sido cada vez mais

usado no tratamento de hepatite viral aguda e em outras doenças do fígado (BERTELLI, 1975; HENNINGS, 1981).

1.3 A Planta

1.3.1 Descrição Botânica

Macela-da-Terra (*Egletes viscosa*, Less), da família Compositae (FIGURA 2), é uma planta anual, aromática, amarga e pilosa, com folhas recortadas e flores alvas com o centro amarelo, dispostas em pequenos capítulos, distribuída na América intertropical (BRAGA, 1976). PIO CORREIA (1974) descreve-a como planta de folha pinatifida, 2 a 5 cm de comprimento, dilatada, capítulos florais solitários, laterais, curtos, pedunculados ou no ápice dos ramos. Invólucro largo-campanulado, brácteas pilosas, lanceoladas e agudas. Corola alva ligulada, lanceolada-aguda. Aquênio, quadrangular de ápice denteado. É também conhecida por Losna-do-Mato (Minas Gerais), Macela-do-Campo, Macela do Sertão, Marcela, Chá de Lagoa (Paraíba), Botancilla (Peru). Erva silvestre comumente encontrada às margens das lagoas, açudes e cursos d'água. Os capítulos florais (flores e sementes) também conhecidos por cabecinhas, aparecem 1 a 3 meses após a estação chuvosa (MATOS, 1990).



FIGURA 2 – *Egletes viscosa*, Less. Fotografia de material cedido pelo Herbário Prisco Bezerra/UFC.

1.3.2 Informações Químicas

Embora sejam conhecidos alguns de seus componentes fixos e voláteis, os princípios ativos ainda não foram identificados, contendo principalmente acetato de trans-pinocarveíla e ácido centipédico (MATOS, 1990). Informações prévias indicaram a presença de uma lactona do ácido hautriwaico (12-acetoxihautriwaicolactona) (SILVEIRA *et al.*, 1989). Recentemente a Ternatina (5, 4'-dihidroxi-3, 7, 8, 3'-tetrametoxi-flavona) um flavonóide, foi isolado e sua estrutura (FIGURA 3) determinada (SILVEIRA *et al.*, 1989).

1.3.3 Efeitos Farmacológicos

O extrato hexânico, obtido dos capítulos florais da planta, contendo ácido centipédico e a lactona do ácido hautriwaico foi testado nas contorções abdominais em camundongos, reto abdominal do sapo, jejuno e duodeno de rato e íleo isolado de cobaio. As substâncias demonstraram possuir efeitos analgésicos e antiespasmódico (SIMÕES *et al.*, 1989a).

A ternatina, um flavonóide também isolado de *Evodia madagascariensis*, Baker (Rutaceae) foi estudada contra vírus DNA e RNA. Sob determinadas condições experimentais, o composto inibiu o efeito citopático causado por vírus e reduziu a infectividade na replicação viral. A ternatina manifestou propriedade farmacológica eficaz contra poliovírus e adenovirus (SIMÕES *et al.*, 1989b).

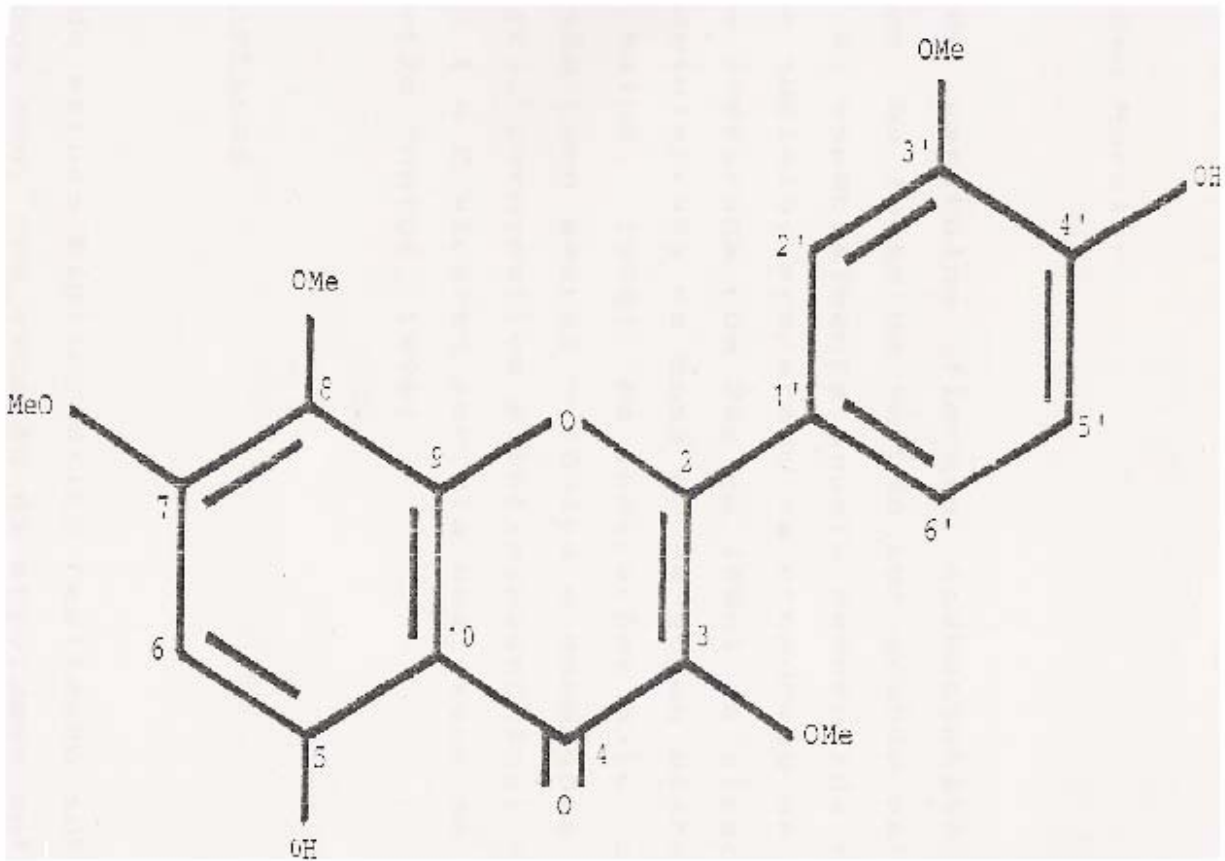


FIGURA 3 – Estrutura química da Ternatina.

1.3.4 Uso Popular

Os capítulos florais (cabecinhas) são largamente utilizados na forma de infuso por grande parte da população brasileira, especialmente aquela desprovida de condições econômicas e sociais, preparado na proporção de 3 a 4 g/xícara. A tintura é preparada com 20 g em 100 mL de álcool de boa qualidade e administrada na dose 40 gotas misturadas com água e açúcar (MATOS, 1990). As indicações mais conhecidas dessa planta são como amargo-tônica e emenagoga (BRAGA, 1960) estomáquica, carminativa e antiespasmódica, podendo ser administradas 1 a 2 xícaras por dia nos casos de dispepsia, azia e indigestão (MATOS, 1990).

1.4 Objetivos

No estudo bibliográfico realizado sobre flavonóides, constatamos que, com exceção da atividade antiviral, nenhuma outra propriedade farmacológica foi imputada à Ternatina. Além disso, com base no uso popular e nas atividades terapêuticas relacionadas com os flavonóides, a Ternatina, extraída das inflorescências de *Egletes viscosa* foi testada com os seguintes objetivos:

- Estudar as propriedades farmacológicas da Ternatina e estabelecer as bases científicas para a utilização da planta na medicina popular.

- Investigar e discutir os possíveis mecanismos de ação envolvidos nas referidas propriedades.

2. Material

2.1 A Planta

Os capítulos florais de *Egletes viscosa*, Less., adquiridos no comércio de Fortaleza-CE (Mercado São Sebastião), foram utilizados para a extração e isolamento

de um bioflavonóide denominado Ternatina (5,4'-dihidroxi-3,7,8,3'-tetrametoxi-flavona), pelo Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, empregado nos ensaios experimentais relatados neste trabalho.

2.2 Animais Experimentais

Camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss-Webster, de ambos os sexos, oriundos do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará e do Biotério do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

Ratos albinos (*Rattus norvegicus*), variedade Wistar, machos, provenientes do Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Cobaios albinos (*Cavia porcellus*), de ambos os sexos, fornecidos pelo Biotério do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE).

Todos os animais utilizados nos ensaios foram mantidos em condições ambientais semelhantes, com ciclo claro/escuro de 12 horas, recebendo ração em grânulos (Purina) e água “ad libitum”.

2.3 Soluções Fisiológicas

Os sais empregados no preparo das soluções fisiológicas possuíam pureza analítica (Merk e Reagen), sendo suas concentrações expressas em milimolar (mM).

- Solução salina

NaCl 154

- Solução de Tyrode

NaCl 136; KCl 2,68; CaCl₂ 1,8; MgCl₂ 0,92; NaHPO₄ 0,36; NaHCO₃ 11,9; Glicose 5,5.

2.4 Reagentes e Corantes

Ácido Acético Glacial (Merck)
Álcool Etílico (Reagen)
Azul de Evans (Sigma)
Citrato de Sódio (Reagen)
Éter Etílico (Reagen)
Hidróxido de Sódio (Reagen)
Lauril Sulfato de Sódio (Reagen)

Kits para determinações bioquímicas e hematológicas:

Bilirrubinas (Labtest)
Fosfatase Alcalina (Labtest)
Transaminases (AST e ALT) (Labtest)
Triglicerídios (Labtest)
Tempo de Protrombina (Biobrás)

2.5 Drogas

Ácido Acetil Salicílico (Reagen)
Carragenina (Sigma)
Ciclofosfamida (Enduxan) (Pravaz)
Cloreto de acetilcolina (Sigma)
Cloreto de Bário (Reagen)
Cloreto de Cálcio (Merck)
Dihidroclorato de Histamina (Sigma)
Heparina (Majer Meyer)
Hidroclorato de Morfina (Ceme)
5-Hidroxitritamina (Sigma)
Indometacina (MSD)

| | |
|--------------------------|---------------------|
| Maleato de Clofeniramina | (Windson) |
| Paracetamol | (Johnson & Johnson) |
| Pentobarbital | (Sigma) |
| Tetracloroeto de Carbono | (Reagen) |

3 MÉTODOS

3.1 Extração e Purificação da Ternatina

A Marcela, adquirida no comércio local, foi identificada através de exame farmacognóstico e comparada como material de excicatas depositadas no herbário da Universidade Federal do Ceará.

O material moído (4,00 kg) foi extraído a frio com hexano e depois com etanol. Os extratos brutos foram obtidos por meio da evaporação dos solventes sob pressão reduzida, os quais renderam 718 mg de material puro. O protocolo de extração e purificação da Ternatina está descrito na FIGURA 4. Na análise cromatográfica, utilizou-se sílica-gel para a separação dos constituintes fixos dos extratos, os quais foram identificados por IV, espectrometria de massa e por ressonância nuclear protônica (RMN¹ e carbono 13 (RMN¹³C) a 300 e 50 MHz respectivamente (FIGURAS 5, 6, 7 e 8).

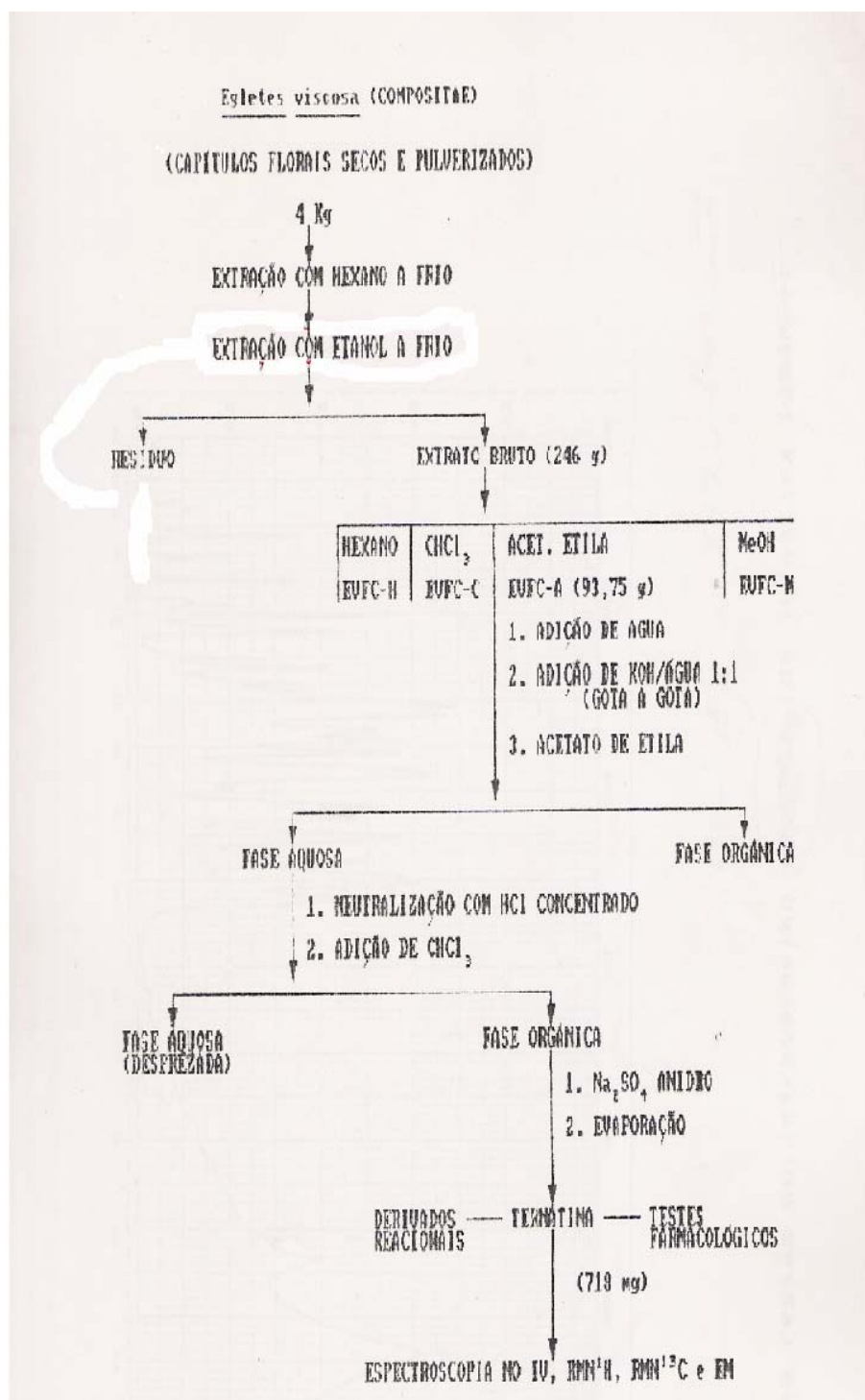


FIGURA 4 – Purificação do extrato hexânico-etanólico de *Egletes viscosa* e isolamento da Ternatina.

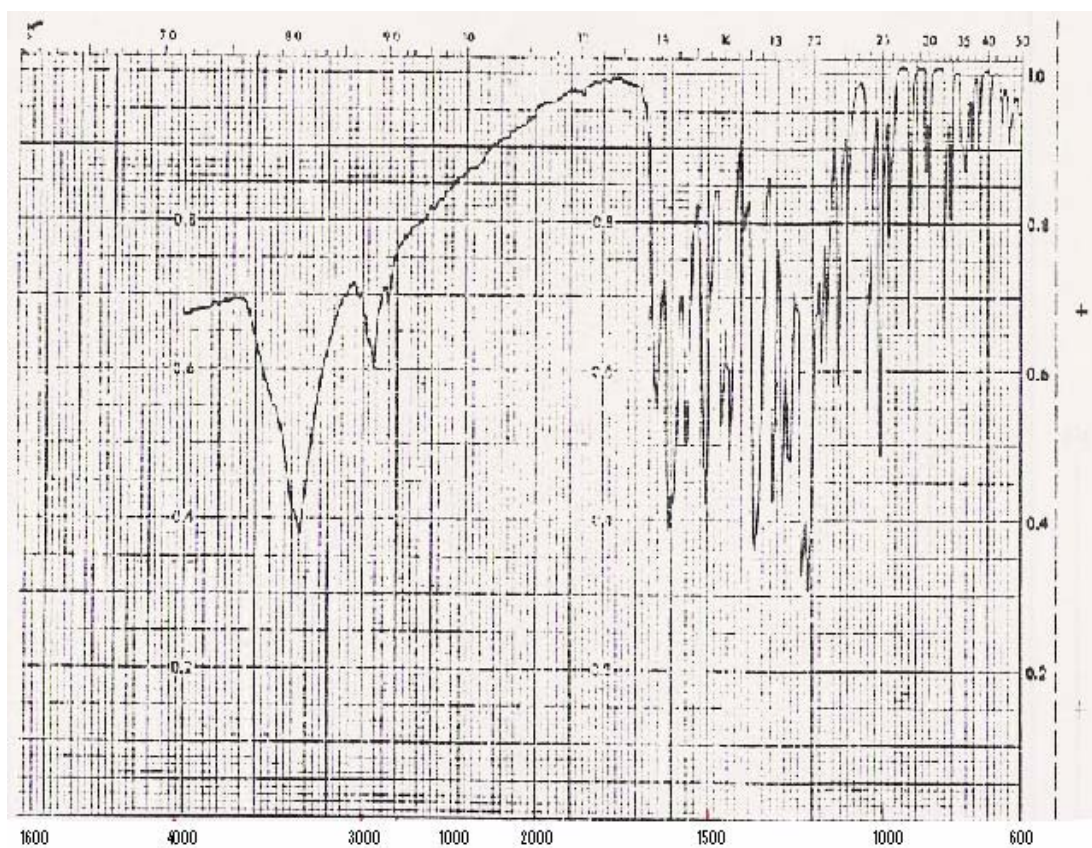


FIGURA 5 – Espectro na região do infravermelho da Ternatina.

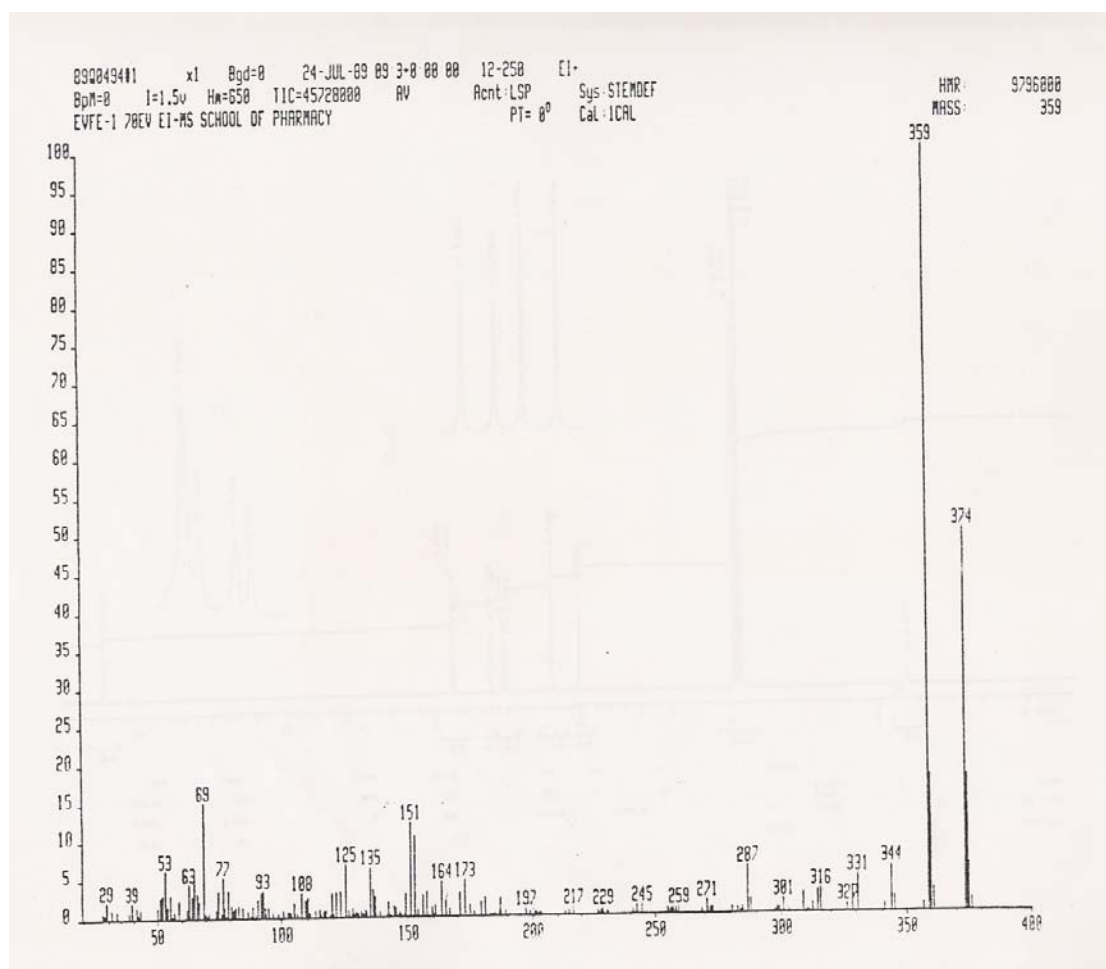


FIGURA 6 – Espectro de massa da Ternatina.

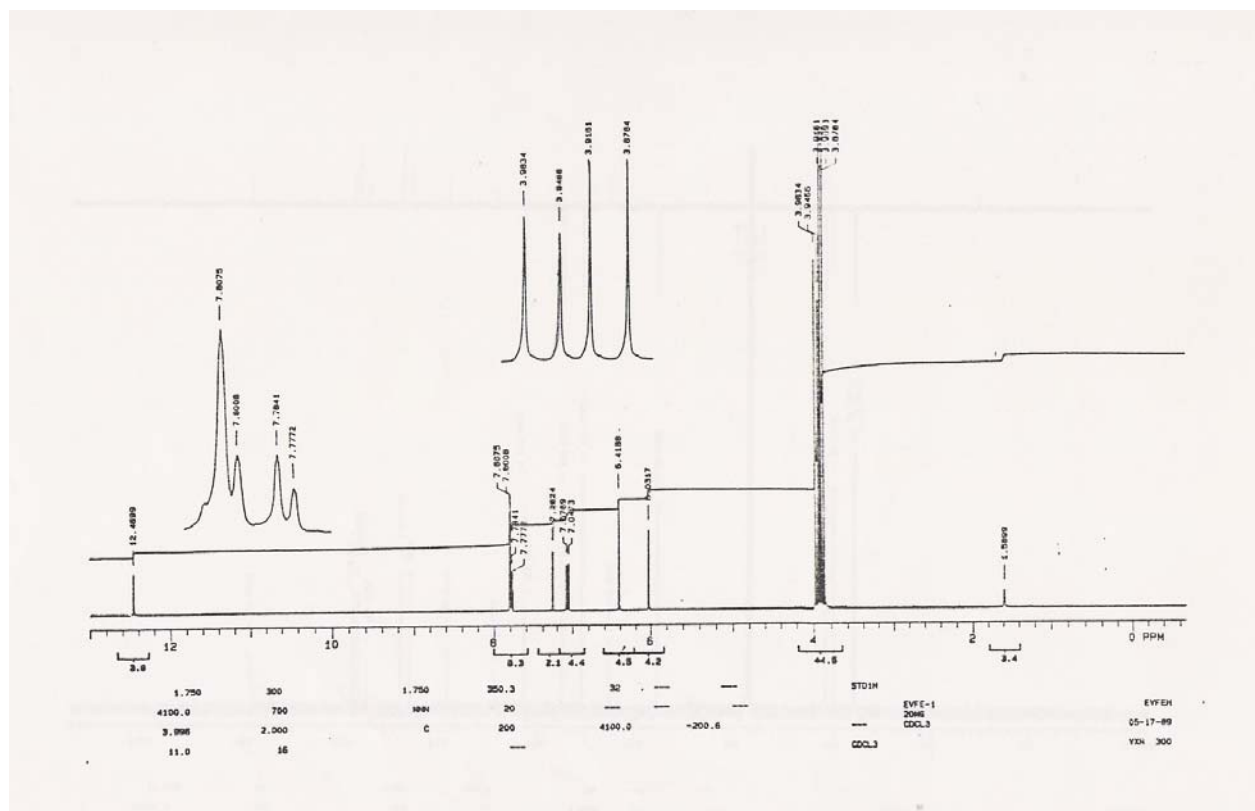


FIGURA 7 – Espectro de ressonância magnética nuclear protônica (RMN¹H) em CDCL₃ da Ternatina (300MHz).

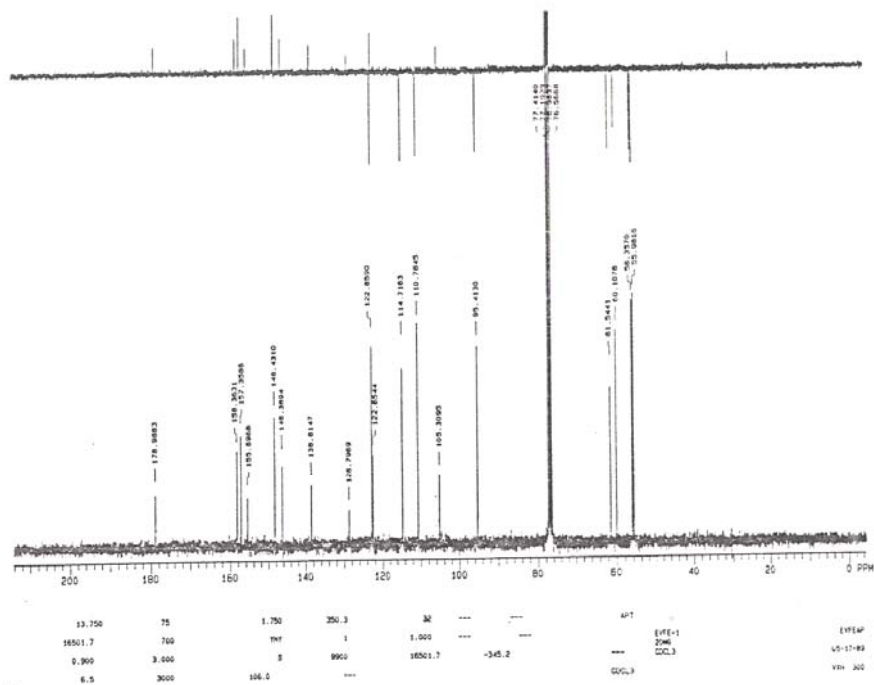


FIGURA 8 – Espectro de ressonância magnética nuclear de carbono (RMN¹³C) em CDCl₃ da Ternatina.

3.2 Ação Antiinflamatória

3.2.1 Inflamação Aguda - Edema de Pata Induzido por Carragenina em Ratos

Ratos machos, Wistar, pensando 120-150 g, escolhidos ao acaso e divididos em 4 grupos de 6 animais foram pré-tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), indometacina (5 mg/kg, v.o.) e veículo (2 mL/kg, i.p. de DMSO 5% em salina). Uma hora depois o processo inflamatório foi induzido por uma injeção subplantar de 0,1 mL de uma solução de carragenina 1% na pata traseira direita (WINTER *et al.*, 1962). O volume da pata foi medido antes e 3 horas depois da injeção de carragenina, por pletismógrafo.

A atividade antiinflamatória da Ternatina e da droga-padrão, indometacina, foi considerada em termos de inibição percentual do edema, de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ inibição} = 1 - \frac{V_t}{V_c} \times 100, \text{ onde}$$

V_t e V_c representam a média das diferenças entre as medidas das patas dos grupos tratados e o grupo controle, respectivamente.

Método Pletismográfico

Foi utilizada uma variante do método de DOMENJOZ (1954) descrito inicialmente por HILLEBRECHT (1954), aperfeiçoado por WINTER (1957). O pletismógrafo, aparelho usado no experimento, encontra-se representado na FIGURA 9.

A pata traseira direita do animal foi estendida firmemente e introduzida até uma determinada região referencial (borda póstero-proximal da proeminência do calcanhar) em um recipiente cheio (B), por onde o líquido deslocado flui para dentro de um tubo horizontal graduado (0,01 mL) (C), no qual a leitura do volume foi realizada. O fluido utilizado foi uma solução de Lauril Sulfato de Sódio 0,05% em Álcool Etilico 5%. Após esvaziamento da solução e zerado o aparelho, a torneira da extremidade (D) foi girada de modo que a abertura ao vácuo fosse fechada e o tubo graduado (C) fosse aberto à atmosfera. A pata do animal foi imersa no vaso (B) até que o ponto de referência

estivesse alinhado com o menisco do fluido observado na parede do vaso durante 2 a 4 segundos, quando então ocorreu o deslocamento do líquido, a pata do rato removida e efetuada a leitura (FIGURA 9).

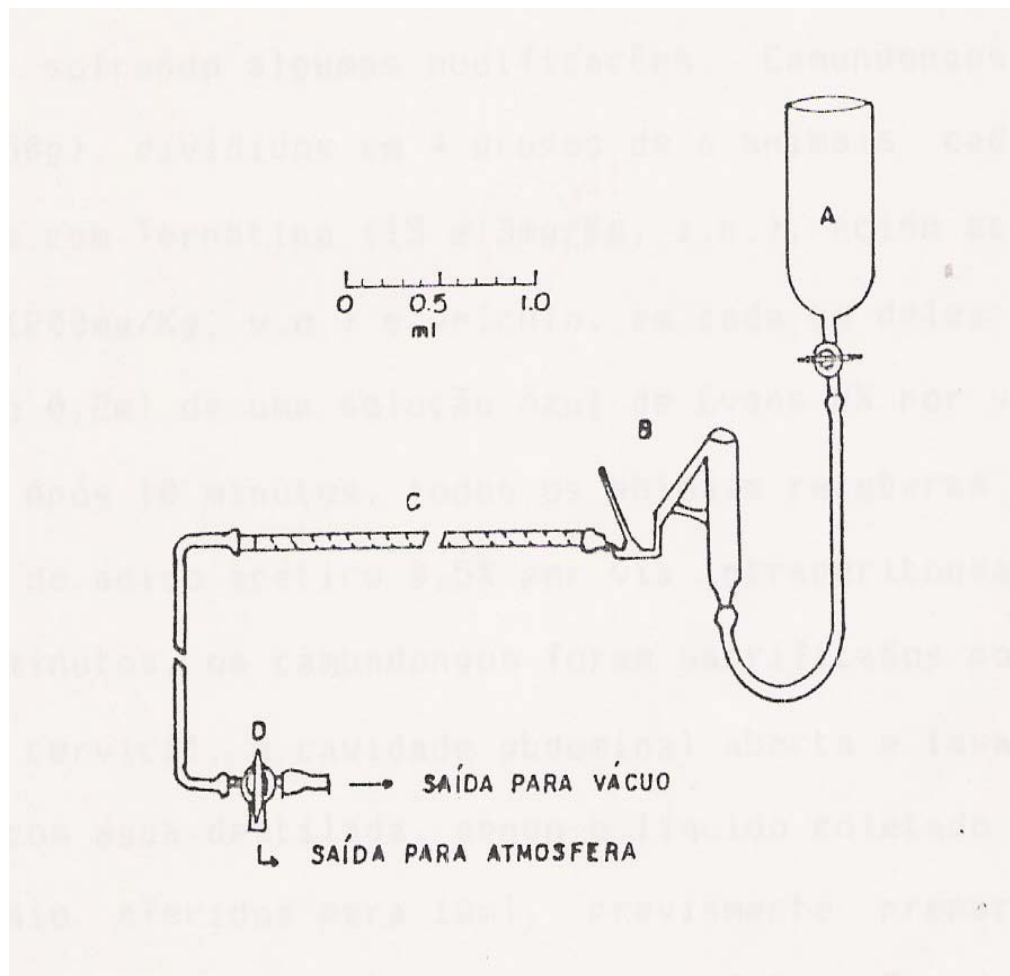


FIGURA 9 – Pletismógrafo – Aparelho utilizado na medida do edema da pata de rato.

Esta é imersa no vaso B, enchido por meio do reservatório A e o líquido transborda para um tubo graduado C, onde se realiza a leitura referente à alteração do volume.

3.2.2 Permeabilidade Capilar

O ensaio da permeabilidade capilar provocada por ácido acético seguiu a metodologia estabelecida por WHITTLE (1964), sofrendo algumas modificações. Camundongos machos, (30-50 g), divididos em 4 grupos de 6 animais cada, foram tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), Ácido Acetilsalicílico (200 mg/kg, v.o.) e veículo, em cada um deles foi administrado 0,2 mL de uma solução Azul de Evans 2% por via intravenosa. Após 10 minutos, todos os animais receberam 0,4 mL de solução de Ácido Acético 0,5% por via intraperitoneal. Passados 20 minutos os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical, a cavidade abdominal aberta e lavada várias vezes com água destilada, sendo o líquido coletado em tubos de ensaio aferidos para 10 mL, previamente preparados com 0,1 mL de NaCl 0,1 N e lã de vidro para a filtração da solução corada. O volume era então completado para 10 mL com água destilada, homogeneizada e a absorbância medida em espectrofotômetro em 590nm.

3.3 Atividade Analgésica

A atividade analgésica da Ternatina foi avaliada pelo método da Placa Quente (EDDY & LEIMBACH, 1953) e pelo teste de “WRITHING” induzida pelo Ácido Acético (KOSTER, 1959), em camundongos machos, pesando entre 30 e 35 g.

3.3.1 Teste da Placa Quente

Os animais foram colocados sobre a placa quente, um de cada vez, aquecida a uma temperatura constante ($55\pm 1^{\circ}\text{C}$) controlada por termostato. Aqueles que exibiram respostas características do estímulo térmico (lamber as patas posteriores e/ou saltar sobre a placa) em cerca de 10 segundos, foram selecionados para o ensaio. Os camundongos escolhidos para o experimento foram divididos em grupos de 6 animais cada e tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) morfina (5 mg/kg, i.p.) e veículo. Os animais foram retestados nos intervalos de 30, 60 e 90 minutos após administração das drogas e registrado o tempo decorrido antes que o animal demonstrasse respostas ao

estímulo térmico. O tempo em que o camundongo permanecia sobre a placa (tempo de reação) foi considerado como critério para avaliação analgésica.

3.3.2 Teste de “WRITHING”

Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), Indometacina (5,0 mg/kg, v.o.) e veículo foram administrados aos animais de cada grupo (6 animais/grupo) uma hora antes dos mesmos receberem 1,0 mL/100 g de peso da solução de Ácido Acético 0,6% por via intraperitoneal. Depois de 15 minutos, passaram a ser observados quando então o número de “WRITHINGS” (contorções abdominais) foi anotado durante um período de 20 minutos.

A atividade analgésica de Ternatina e da Indometacina foi avaliada em termos de inibição percentual das contrações abdominais de acordo com a fórmula:

$$1 - \frac{Vt}{Vc} \times 100$$

Vt e Vc significam os valores correspondentes às médias das contorções registradas nos grupos tratados com as drogas e com o veículo, respectivamente.

3.3.3 Atividade Antipirética da Ternatina em Ratos Hiper-Térmicos

Ratos machos (200-250g), divididos em 3 grupos de 6 animais cada, foram utilizados para a verificação da atividade antipirética. A hipertermia foi induzida pela injeção de levedura de cerveja 20% por via subcutânea. Após 18 horas da injeção do agente indutor da febre, tempo necessário para que a temperatura máxima fosse atingida, a temperatura corporal de todos os animais foi verificada através da introdução retal de cerca de 3 a 4 cm do termômetro clínico durante 1 minuto. Logo depois, os animais foram tratados com Ternatina (30 mg/kg, i.p.), Paracetamol (250 mg/kg, v.o.) e veículo para grupo controle. Passadas 1, 2, 3 e 4 horas após o tratamento, as temperaturas retais foram novamente observadas. As médias das temperaturas dos grupos foram estabelecidas e comparadas entre si.

3.4 Ação Gastroprotetora

3.4.1 Lesões Gástricas Induzidas por Etanol 99% em Camundongos

A ação gastroprotetora da Ternatina foi avaliada contra lesões gástricas induzidas por Álcool Etílico 99%. Os camundongos, (30-35g), divididos em 5 grupos de 6 animais cada, foram mantidos em jejum durante a noite, sendo permitida apenas a ingestão de água “ad libitum”, até duas horas antes do ensaio. Os animais receberam um pré-tratamento com Ternatina (15, 30 e 60 mg/kg, i.p.), Clorfeniramina (10 mg/kg, i.p.) e veículo, uma hora antes da lesão gástrica ser induzida por administração oral de 0,15 mL de Etanol 99%. Quinze minutos depois, todos os camundongos foram sacrificados por deslocamento cervical, os estômagos removidos, abertos ao longo da grande curvatura e lavados com salina. O tamanho da lesão gástrica foi estimado através de uma escala arbitrária de 1 a 3, com base na extensão da hiperemia (GUTH *et al.*, 1984).

3.5 Efeitos da Ternatina sobre o Trânsito Gastrointestinal em Camundongos

A propulsão intestinal foi avaliada em grupos de 5 camundongos (31-38 g), fêmeas, tratadas com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) e veículo (2 mL/kg, i.p. DMSO 5% em salina). Após 10 minutos, todos os animais receberam uma suspensão de carvão 10% em solução de goma arábica 5% (10 mg/kg, v.o.). Transcorridos 20 minutos, foram sacrificados por deslocamento cervical, sendo o estômago e o intestino removidos e estendidos sobre uma superfície de vidro. A distância percorrida pelo carvão em relação à extensão total do intestino foi medida e expressa de forma percentual.

3.6 Efeito Hepatoprotetor da Ternatina sobre a Toxicidade induzida por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em Ratos

Ratos machos, com peso variando entre 120 e 150 g foram escolhidos ao acaso e divididos em 3 grupos de 6 animais cada, para serem submetidos à avaliação da

toxicidade hepática induzida pela injeção subcutânea de CCl_4 . O primeiro e segundo grupos de animais foram tratados com solução salina isotônica 0,9% e Ternatina (30 mg/kg, i.p.), respectivamente por via intraperitoneal, durante 9 dias consecutivos. O volume injetado em cada animal foi de 2 mL/kg. As lesões hepáticas foram induzidas nesses animais através de uma única injeção de CCl_4 , administrada no segundo dia do tratamento. O terceiro grupo de animais foi utilizado como controle e recebeu apenas solução salina durante o mesmo período. Amostras de sangue foram coletadas em animais anestesiados com Éter Etílico, através do sinus ocular, 24, 72, 120 e 192 horas após administração de CCl_4 . Todas as coletas do sangue foram efetuadas entre 9 e 10 horas da manhã com os animais alimentados e o sangue utilizado para as determinações bioquímicas e hematológicas.

Ao final do período de tratamento (9º dia), todos os animais dos respectivos grupos receberam uma injeção de Pentobarbital Sódico (40 mg/kg, i.p.) para a verificação do tempo de sono pelo método de DANDIYA & CULLUMBINE (1959). Ao adormecerem, os animais foram colocados em posição de decúbito dorsal sobre o balcão do laboratório, à temperatura ambiente (27°C), onde não eram perturbados. O espaço de tempo entre a perda e a recuperação completa do reflexo foi considerado como a duração do tempo de sono, calculado para cada animal isoladamente, de acordo com a fórmula: $T_s = T_1 - T_0$, onde T_0 é o tempo em que adormeceu e T_1 o tempo em que despertou, dado em minutos.

3.6.1 Determinações Bioquímicas e Hematológicas

As amostras sangüíneas foram utilizadas para a verificação da atividade enzimática de alanina-aminotransferase (ALT) (REITMAN & FRANKEL, 1957), aspartato-aminotransferase (AST) (REITMAN & FRANKEL, 1957) e fosfatase alcalina (ALP) (ROY, 1970), da concentração de bilirrubina total (BT) (SIMS-HORN, 1958) e triglicerídios (TG) (SOLONI, 1971) e do tempo de protrombina plasmática (TP) (QUICK, 1970).

As atividades de ALT e AST foram medidas pelo método que tem como princípio a formação das hidrazonas correspondentes a cada uma delas (piruvato e oxalacetato),

pela adição de 2,4-dinitrofenilhidrazina (reagente de cor) que, em meio alcalino, (NaOH 0,4 N) transformam-se em produtos corados os quais são medidos em espectrofotômetro em 505 nm. A coloração é tanto mais intensa quanto maior a atividade enzimática. A avaliação da ALP foi verificada pela hidrólise da timolftaleína monofosfato (substrato), liberando timolftaleína, que tem cor azul em meio alcalino. A cor formada, diretamente proporcional à atividade enzimática, foi medida em 590 nm. A dosagem da BT foi realizada pelo método cujo princípio baseia-se na reação deste composto sérico com o ácido sulfanílico diazotado (reativo de Ehrlich) formando a “azobilirrubina” de cor vermelha, diretamente proporcional à concentração de bilirrubina na amostra.

O fundamento da reação para a dosagem dos TG baseia-se na extração seletiva destes com uma mistura de varsol (solvente derivado do petróleo), isopropanol e ácido sulfúrico (líquido extrator). Posteriormente, sofrem transesterificação pelo etilato de sódio, dando glicerol que é oxidado a formaldeído pela adição do metaperiodato de sódio (reativo oxidante). O formaldeído resultante reage com acetilacetona em presença de amônia, formando um complexo de cor amarela (3,5-diacetil-1,4-dihidro lutidina), tanto mais intensa quanto maior a concentração de triglicerídios na amostra. O tempo de protrombina consiste na comparação dos tempos de coagulação de plasma normal de referência, contendo 100% de atividade protrombínica. Ele mede de forma global a atividade dos principais fatores envolvidos na coagulação sangüínea, a saber: Fator II (protrombina), Fator V (pró-acelerina), Fator VII (pró-convertina) e Fator X (Stuart).

3.7 Efeito da Ternatina sobre o Íleo Isolado de Cobaio

O experimento para avaliação dos efeitos da Ternatina em íleo isolado de cobaio seguiu o método proposto por MAGNUS (1904). Foram utilizados animais de ambos os sexos, pesando entre 300 e 400 g, mantidos previamente em jejum durante 24 horas. Após sacrifício através do deslocamento cervical, o cobaio foi colocado sobre uma prancha de madeira em decúbito dorsal e feito uma incisão abdominal em forma de “V”. Uma porção da parte terminal do íleo foi retirada (± 2 cm), lavada com solução

nutritiva de Tyrode e imediatamente montado em banho, para órgão isolado, contendo 10 mL da mesma solução continuamente aerada e mantida à temperatura de 37°C. Após repouso, por um período de 30 a 40 minutos, para estabilização do órgão, foi iniciado o registro das respostas contráteis provocadas pelos seguintes agonistas: Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6} \text{M}$), Histamina ($0,32 \times 10^{-6} \text{M}$), Serotonina ($0,28 \times 10^{-7} \text{M}$) e Cloreto de Bário ($0,20 \times 10^{-6} \text{M}$). Foi observado um intervalo de tempo de 3 minutos antes e após a incubação da Ternatina nas doses de 0, 1, 0, 2 e 0, 4 mg/mL. O efeito dos agonistas sobre o íleo do cobaio foi registrado em quimógrafo e alavanca isotônica de inscrição frontal com uma tensão de 0,5 g e amplificação de 6 vezes.

3.8 Atividade Citotóxica

3.8.1 Efeito da Ternatina sobre a Citotoxicidade em Cultura de Tecido

O estudo *in vitro* foi realizado pelo método de cultura de tecido (células KB), derivado de carcinoma epidermóide da boca de um adulto (EAGLE, 1955), utilizando minimal essential médium (MEM), suplementado com soro fetal bovino 10%, glutamina 1% e antibióticos 1% (penicilina, estreptomicina e kanamicina) (EAGLE, 1959). As células foram cultivadas rotineiramente em dias alternados e semeadas 10^6 células por frasco empregadas no ensaio de citotoxicidade, de acordo com o protocolo para “screening” de agentes químicos e produtos naturais. A repicagem celular foi efetuada 24 horas antes do experimento em mono extrato removida com 0,25% de tripsina (EDWARDS, 1959) e diluída no meio para 30.000 células/mL. As substâncias testadas foram adicionadas a 4 mL do meio numa concentração de 0, 1, 1, 0, 10, 0 e 100 $\mu\text{g/mL}$ e as placas incubadas a 37°C por 72 horas em uma atmosfera de 5% de CO_2 . A atividade citotóxica foi avaliada pela percentagem de inibição do crescimento celular observado nas placas acima mencionadas em relação ao controle. A proliferação das células foi medida através da concentração de proteínas.

3.9 Métodos Estatísticos

Os resultados obtidos em todos os testes em que exigiram análises estatísticas foram expresso em média \pm E.P.M (erro padrão da média). Os níveis de significância estatística ($p < 0,01$) e ($p < 0,05$) foram calculados através do teste “t” de Student e, quando necessário, os resultados foram submetidos à análise de variância.

4. RESULTADOS

4.1 Ação Antiinflamatória

4.1.1 Inflamação Aguda – Edema de Pata Induzido por Carragenina em Ratos

Os resultados relativos ao efeito antiinflamatório da Ternatina sobre o edema da pata provocado por carragenina encontram-se na TABELA 1.

As doses de 15 e 30 mg/kg de Ternatina, por via intraperitoneal diminuíram o volume (em mL) médio do edema da pata induzido por carragenina ($0,77 \pm 0,10$ e $0,64 \pm 0,07$, respectivamente), sendo que a redução foi significativa ($p < 0,01$), quando comparadas ao grupo controle. Ternatina demonstrou uma percentagem de inibição do volume médio da pata de 23 e 36% de forma dose-dependente. A redução percentual do volume médio da pata com Ternatina na dose de 30 mg/kg, i.p., permaneceu cerca de metade da que foi observada com a droga padrão utilizada no experimento, Indometacina (5 mg/kg, v.o.), que foi de 68% correspondente a $0,32 \pm 0,03$.

4.1.2 Permeabilidade Capilar Induzida por Ácido Acético em Camundongos

Os grupos de animais tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), Ácido Acetilsalicílico (200 mg/kg, v.o.) e veículo (0,2 mL/10 g, i.p. de DMSO 5% em salina), apresentaram uma concentração média do corante ($\mu\text{g}/\text{animal}$), relativa ao

extravasamento do líquido igual a $52,5 \pm 0,8$, $39,7 \pm 0,5$, $19,8 \pm 0,42$ e $64,1 \pm 0,6$, respectivamente.

Esses resultados mostraram que a Ternatina tem efeito dose-dependente sobre a permeabilidade capilar provocada por ácido acético em camundongos, uma vez que apresentou percentagem de inibição de 18% e 38% com doses de 15 e 30 mg/kg, via intraperitoneal. No entanto, a droga padrão, ácido acetilsalicílico na dose de 200 mg/kg por via oral, inibiu a permeabilidade capilar em 69%, demonstrando, portanto, possuir maior efeito que a droga em estudo. Os resultados do presente ensaio estão sumarizados na TABELA 2 E FIGURA10.

| TRATAMENTO | DOSE | EDEMA DE PATA (ml) (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | PERCENTAGEM DE INIBIÇÃO DO EDEMA |
|-----------------------|---------------|---|-------------------------------------|
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | 1,00 ± 0,05 | - |
| TERNATINA | 15mg/Kg. i.p. | 0,77 ± 0,10* | 23 |
| | 30mg/Kg. i.p. | 0,64 ± 0,07** | 36 |
| INDOMETACINA | 5mg/Kg. v.o. | 0,32 ± 0,03** | 68 |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 1 – Efeito da Ternatina e da indometacina no edema de pata induzido por carragenina em ratos.

4.2 Atividade Analgésica

4.2.1 Teste da Placa Quente

A Ternatina, nas doses de 15 e 30 mg/kg, administrada por via intraperitoneal, não demonstrou efeito significativo sobre o tempo de reação ao estímulo térmico. Por sua vez, a Morfina (5mg/kg, i.p.) reduziu significativamente ($p < 0,01$) o tempo de reação ao estímulo térmico. Os valores do tempo, em segundos, para os grupos de animais tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), Morfina (5 mg/kg, i.p.) e veículo nos primeiros 30, 60 e 90 minutos encontram-se na TABELA 3.

| TRATAMENTO | DOSE | EXTRAVASAMENTO DO CORANTE (ug/animal) (MÉDIA $n \pm E.P.$) | PERCENTUAL DE INIBIÇÃO |
|-----------------------------|----------------|---|---------------------------|
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | 64,1 \pm 0,60 | - |
| TERNATINA | 15mg/Kg. i.p. | 52,5 \pm 0,80** | 18 |
| | 30mg/Kg. i.p. | 39,7 \pm 0,50** | 38 |
| ÁCIDO ACETIL- SALICÍLICO | 200mg/Kg, v.o. | 19,8 \pm 0,42** | 69 |

n = valor da média corresponde a 6 animais
** significativamente diferente do grupo controle ($p < 0,01$)
Teste "t" Student

TABELA 2 – Efeito da Ternatina e do Ácido Acetilsalicílico sobre a permeabilidade capilar induzida por Ácido Acético em camundongos.

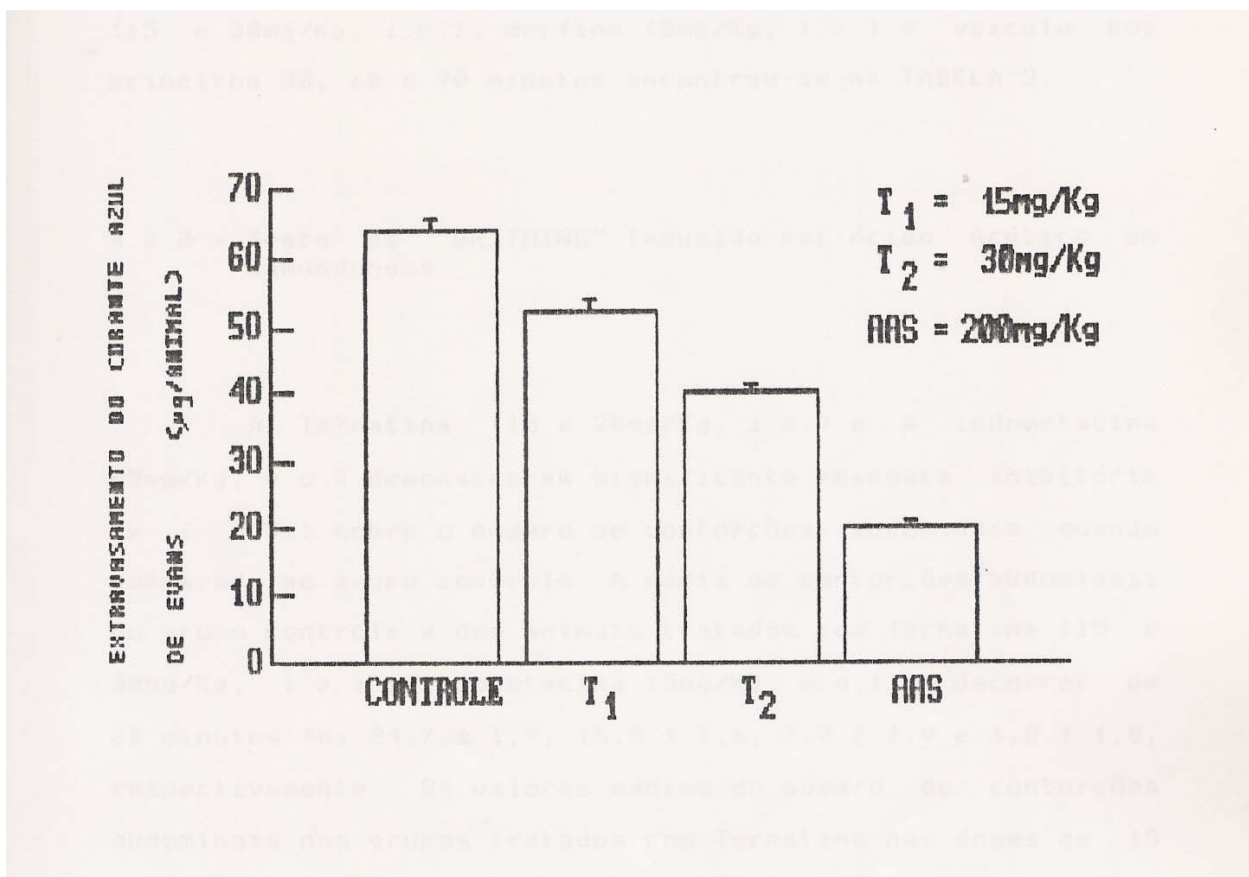


FIGURA 10 – Efeito da Ternatina e do Ácido Acetilsalicílico (AAS) sobre a permeabilidade capilar induzida por Ácido Acético em camundongos.

4.2.2 Teste de “WRITHING” Induzido por Ácido Acético em Camundongos

A Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) e a Indometacina (5 mg/kg, v.o.) demonstraram significativa resposta inibitória ($p < 0,01$) sobre o número de contrações abdominais quando comparada ao grupo controle. A média de contrações abdominais do grupo controle e dos animais tratados com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) e Indometacina (5 mg/kg, v.o.) no decorrer de 20 minutos foi $24,7 \pm 1,9$; $15,5 \pm 1,6$; $7,0 \pm 1,0$ e $6,2 \pm 1,8$, respectivamente. Os valores médios do número de contrações abdominais dos grupos tratados com Ternatina nas doses de 15 e 30 mg/kg, i.p. e com Indometacina (5 mg/kg, v.o.) foram 72%, 37% e 75% respectivamente. A Ternatina e a Indometacina nas doses acima mencionadas, apresentaram significativa atividade analgésica periférica, cujos resultados encontram-se registrados na TABELA 4.

| GRUPOS TRATADOS | DOSE E VIA DE ADMINISTRAÇÃO | TEMPO EM SEGUNDOS PARA A RESPOSTA AO ESTÍMULO TÉRMICO APÓS TRATAMENTO COM AS DROGAS (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | | |
|--------------------|--------------------------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 0' | 30' | 60' | 90' |
| CONTROLE | - | 3,8 ± 0,77 | 7,5 ± 1,30 | 7,2 ± 1,50 | 10,0 ± 1,21 |
| TERNATINA | 15mg/Kg, i.p. | 7,6 ± 0,75 | 11,8 ± 2,30 | 13,2 ± 1,44 | 16,7 ± 1,66 |
| | 30mg/Kg, i.p. | 11,0 ± 0,91 | 12,0 ± 1,65 | 10,0 ± 1,15 | 12,8 ± 1,77 |
| MORFINA | 5mg/Kg, i.p. | 9,4 ± 0,80 | 32,6 ± 1,20 ^{**} | 37,2 ± 0,90 ^{**} | 30,9 ± 1,40 ^{**} |

n = valor da média corresponde a 6 animais

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 3 – Efeito da Ternatina e Morfina no teste de placa quente em camundongos.

| TRATAMENTO | DOSE | Nº DE CONTORÇÕES | PERCENTAGEM DE REDUÇÃO DAS CONTORÇÕES |
|-----------------------|---------------|--|--|
| | | ABDOMINAIS/20min (MÉDIA \bar{n} \pm E.P.) | |
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | 24,7 \pm 1,90 | - |
| TERNATINA | 15mg/Kg, i.p. | 15,5 \pm 1,60** | 37 |
| | 30mg/Kg, i.p. | 7,0 \pm 1,00** | 72 |
| INDOMETACINA | 5mg/Kg, v.o. | 6,2 \pm 1,00** | 75 |

n = média corresponde a 6 animais

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 4 – Efeito da Ternatina e da Indometacina nas contorções abdominais induzidas por Ácido Acético em camundongos.

4.2.3 Atividade Antipirética da Ternatina em Ratos

A Ternatina na dose de 30 mg/kg, administrada por via intraperitoneal demonstrou efeito antipirético, conforme resultados apresentados na TABELA 5 e FIGURA 11. As temperaturas retais médias registradas após 1 hora ($37,74 \pm 0,21$), 2 horas ($37,96 \pm 0,12$), 3 horas ($38,44 \pm 0,18$) e 4 horas ($38,72 \pm 0,12$) do tratamento com o composto em estudo, quando comparadas ao controle mostraram-se significativas ($p < 0,01$). Os animais tratados com Paracetamol (250 mg/kg, i.p.) por sua vez, demonstraram significativa redução ($p < 0,01$) da temperatura corporal ($37,48 \pm 0,24$; $37,92 \pm 0,28$; $38,28 \pm 0,24$ e $38,42 \pm 0,18$) nas 4 horas transcorridas após o tratamento.

4.3 Ação Gastroprotetora

4.3.1 Lesões Gástricas Induzidas por Etanol 99% em Camundongos

Nos grupos de animais com Ternatina (30 e 60 mg/kg, i.p.) e Clorfeniramina (10 mg/kg, i.p.) houve uma significativa redução do número e escore das lesões gástricas, que foram $1,7 \pm 0,21$; $0,7 \pm 0,21$ e $1,8 \pm 0,31$, respectivamente (TABELA 6). Os camundongos que receberam Ternatina (15 mg/kg, i.p.) não representaram diferença significativa na média das úlceras ($2,5 \pm 0,22$), quando confrontada com a dos animais do grupo controle ($2,7 \pm 0,21$). Os grupos em que foram administradas Ternatina (30 e 60 mg/kg, i.p.) e Clorfeniramina (10 mg/kg, i.p.) exibiram uma notável redução da percentagem de inibição das lesões do estômago. Os percentuais de inibição das úlceras gástricas demonstrados por ternatina (30 e 60 mg/kg, i.p.) e Clorfeniramina (10 mg/kg, i.p.) foram 37%, 74% e 33%, respectivamente. (FIGURA 12 e 13).

4.4 Efeito da Ternatina sobre o Trânsito Gastrointestinal em Camundongos

A Ternatina, nas doses de 15 e 30 mg/kg, via intraperitoneal, produziu uma inibição significativa do trânsito gastrointestinal em camundongos, quando comparada ao grupo controle, cujo efeito não foi dose-dependente. A distância do intestino

percorrida pela suspensão de carvão, avaliada em termos percentuais, foi de $56,9 \pm 3,7$ para o controle e de $42,2 \pm 3,9$ e $40,0 \pm 2,1$ com Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.), respectivamente (TABELA 7 e FIGURA 14).

| GRUPOS TRATADOS | DOSE E VIA DE ADMINISTRAÇÃO | APÓS TRATAMENTO COM LEVEDURA DE CERVEJA | TEMPERATURA RETAL EM °C APÓS O TRATAMENTO COM AS DROGAS (MÉDIA ^D ± E.P.) | | | |
|--------------------|-----------------------------|---|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | | 1 HORA | 2 HORAS | 3 HORAS | 4 HORAS |
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | $39,08 \pm 0,08$ | $39,18 \pm 0,07$ | $39,30 \pm 0,10$ | $39,31 \pm 0,14$ | $39,30 \pm 0,12$ |
| TERNATINA | 30mg/Kg, i.p. | $39,54 \pm 0,14$ | $37,74 \pm 0,21^{**}$ | $37,96 \pm 0,12^{**}$ | $38,44 \pm 0,18^{**}$ | $38,72 \pm 0,12^{**}$ |
| PARACETAMOL | 250mg/Kg, v.o. | $39,32 \pm 0,27$ | $37,48 \pm 0,24^{**}$ | $37,92 \pm 0,28^{**}$ | $38,28 \pm 0,24^{**}$ | $38,42 \pm 0,18^{**}$ |

n = média correspondente a 6 animais
 ** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)
 Teste "t" Student

TABELA 5 – Efeito da Ternatina e Paracetamol em hipertemia induzida por levedura de cerveja em ratos.

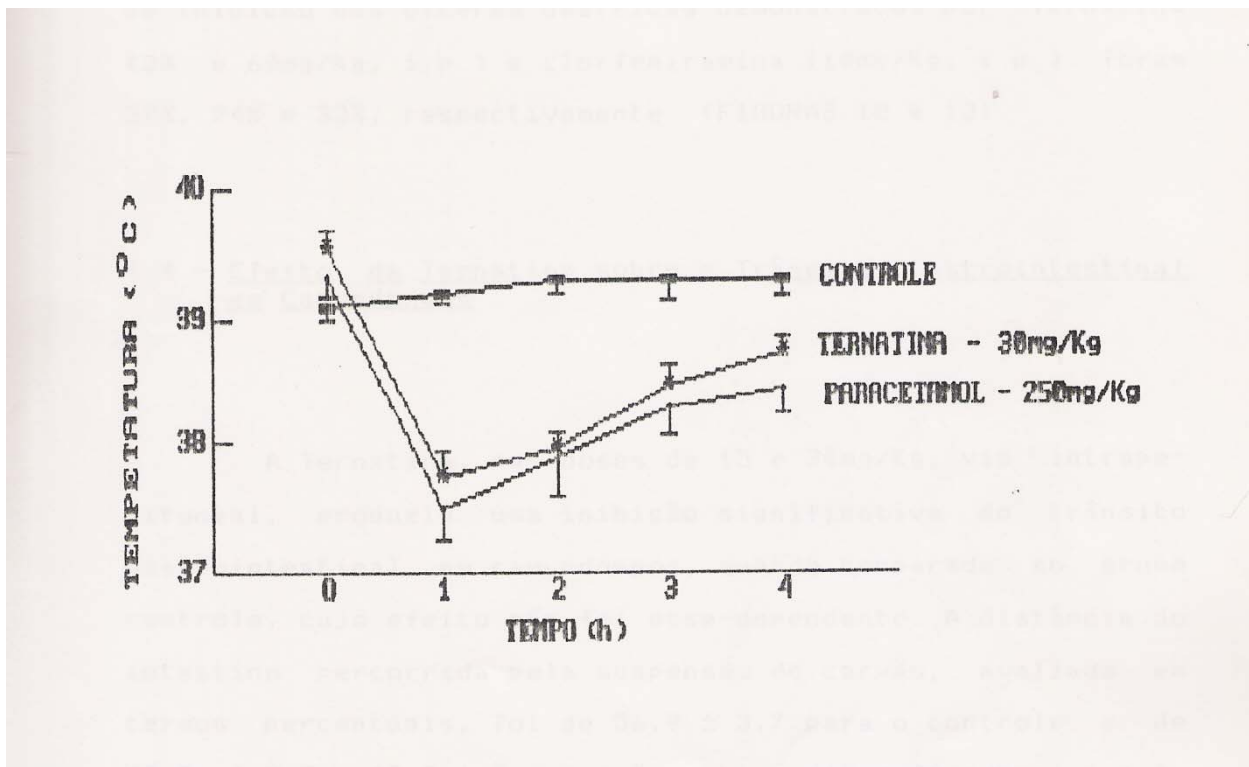


FIGURA 11 – Atividade antipirética da Ternatina e do Paracetamol sobre a hipertermia provocada por levedura de cerveja em ratos.

| TRATAMENTO | DOSE | Nº LESÕES GÁSTRICAS (SCORE) (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | PERCENTAGEM DE INIBIÇÃO |
|-----------------------|---------------|--|----------------------------|
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | 2,70 ± 0,21 | - |
| TERNATINA | 15mg/Kg, i.p. | 2,50 ± 0,22 | 7 |
| | 30mg/Kg, i.p. | 1,70 ± 0,21** | 37 |
| | 60mg/Kg, i.p. | 0,70 ± 0,21** | 74 |
| CLORFENIRAMINA | 10mg/Kg, i.p. | 1,80 ± 0,31* | 33 |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 6 – Efeito da Ternatina nas lesões gástricas induzidas por Etanol 99% em camundongos.

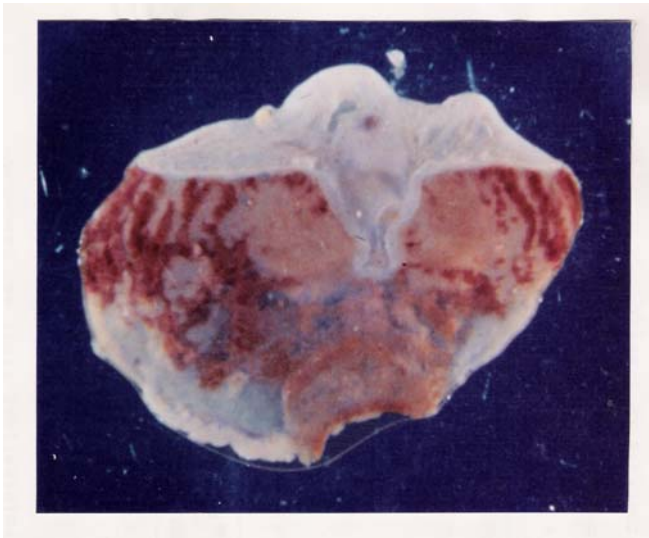


FIGURA 12 – Lesões gástricas induzidas por Etanol (99%) em camundongos.



FIGURA 13 – Efeito preventivo da Ternatina a lesões gástricas em camundongos.

| TRATAMENTO | DOSE | DISTÂNCIA DO INTESTINO PERCORRIDA PELA SUSPENSÃO DE CARVÃO (%) |
|-----------------------|---------------|--|
| | | (MÉDIA \bar{n} \pm E.P.) |
| CONTROLE (VEÍCULO) | - | 56,9 \pm 3,7 |
| TERNATINA | 15mg/Kg. i.p. | 42,2 \pm 3,9* |
| | 30mg/Kg. i.p. | 40,0 \pm 2,1** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 7 – Efeito da Ternatina sobre o trânsito gastrointestinal (TGI) em camundongos.

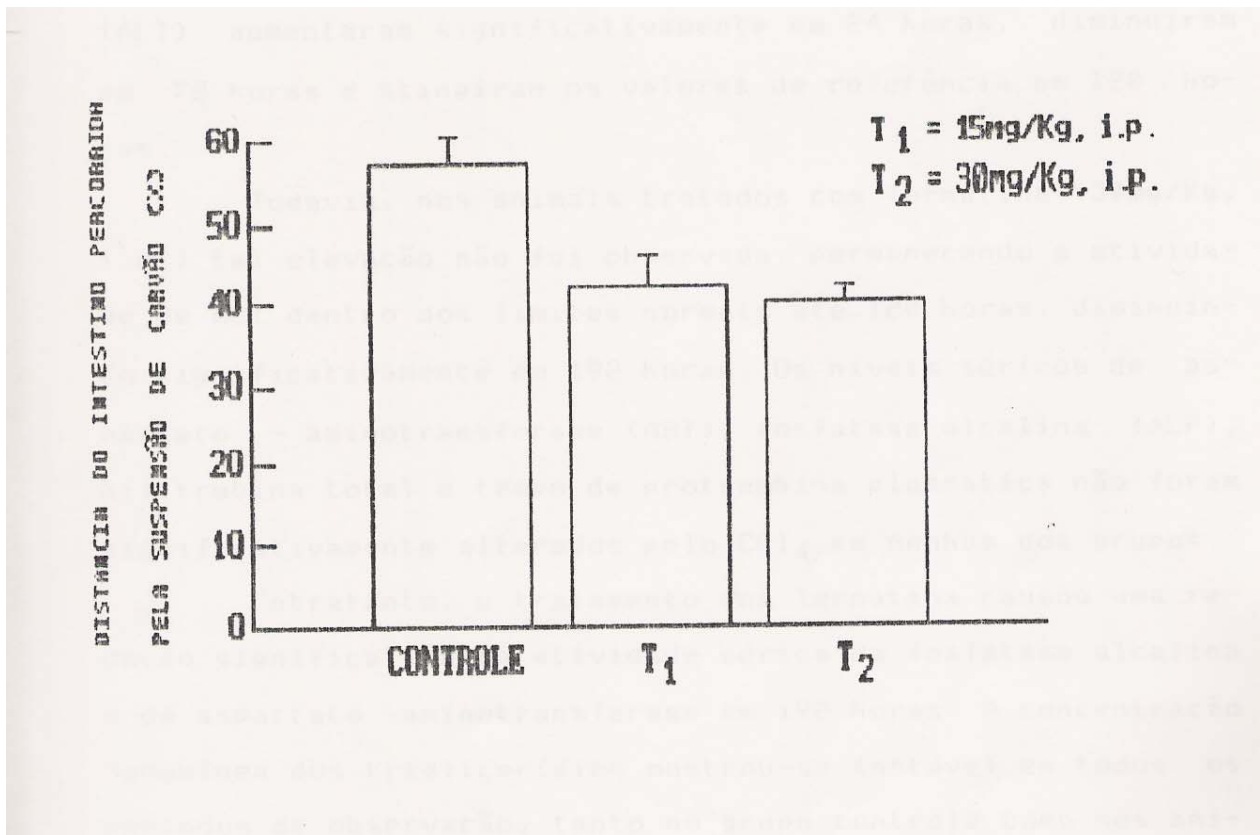


FIGURA 14 – Efeito da Ternatina sobre trânsito gastrointestinal em camundongos.

4.5 Efeito da Ternatina em Ratos Portadores de Lesões Hepáticas Induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄)

Nos animais do grupo controle tratado com Tetracloreto de Carbono (CCl₄), os níveis de alanina-aminotransferase (ALT) aumentaram significativamente em 24 horas, diminuíram em 72 horas e atingiram os valores de referência em 120 horas.

Todavia, nos animais tratados com Ternatina (30 mg/kg, i.p.) tal elevação não foi observada, permanecendo a atividade de ALT dentro dos limites normais até 120 horas, diminuindo significativamente em 192 horas. Os níveis séricos de aspartato-aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), bilirrubina total e tempo de protombina plasmática não foram significativamente alterados pelo CCl₄ em nenhum dos grupos.

Entretanto, o tratamento com Ternatina causou uma redução significativa na atividade sérica da fosfatase alcalina e da aspartato-aminotransferase em 192 horas. A concentração sanguínea de triglicerídios mostrou-se instável em todos os períodos de observação, tanto no grupo controle como nos animais tratados com Ternatina (TABELA 8, 9, 10, 11, 12 e 13). A atividade enzimática de ALT e AST nos períodos de 24 e 192 horas está apresentada na FIGURA 15.

| TEMPO (h) | ATIVIDADE DE ALT (U/l) - (MÉDIA \bar{n} \pm E.P.) | | |
|-----------|---|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | CCl ₄ + TERNATINA |
| 24 | 26,9 \pm 1,5 | 48,5 \pm 8,4** | 21,2 \pm 1,7* |
| 72 | 21,2 \pm 1,1 | 38,0 \pm 3,9** | 20,0 \pm 1,5 |
| 120 | 28,3 \pm 2,5 | 26,5 \pm 3,7 | 28,9 \pm 2,2 |
| 192 | 29,4 \pm 1,7 | 32,9 \pm 0,89* | 13,1 \pm 1,2** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 8 – Efeito da Ternatina sobre os níveis de alanina-aminotransferase sérica (ALT) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em camundongos.

| TEMPO (h) | ATIVIDADE DE AST (U/l) - (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
|-----------|--|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | CCl ₄ + TERNATINA |
| 24 | 39,6 ± 2,3 | 52,6 ± 9,6 | 57,8 ± 12,8 |
| 72 | 33,7 ± 1,6 | 41,5 ± 5,7 | 40,2 ± 6,0 |
| 120 | 35,5 ± 3,7 | 32,4 ± 0,89 | 35,2 ± 3,7 |
| 192 | 47,2 ± 3,6 | 36,0 ± 2,2* | 24,6 ± 0** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 9 – Efeito da Ternatina sobre os níveis de aspartato-aminotransferase (AST) sérica em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos.

| TEMPO (h) | ATIVIDADE DE ALP (mU/ml) - (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
|-----------|--|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | CCl ₄ + TERNATINA |
| 24 | 1.070 ± 181 | 823 ± 37,2 | 640 ± 164,7 |
| 72 | 816 ± 53 | 1.066 ± 126* | 637 ± 95 |
| 120 | 940 ± 17 | 757 ± 68** | 860 ± 100 |
| 192 | 903 ± 17 | 753 ± 37** | 450 ± 26** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 10 – Efeito da Ternatina sobre os níveis de fosfato alcalina sérica (ALP) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos.

| TEMPO (h) | CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BT (mg/100ml) - (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
|-----------|--|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | TERNATINA + CCl ₄ |
| 24 | 0,38 ± 0,05 | 0,31 ± 0,05 | 0,31 ± 0,05 |
| 72 | 0,23 ± 0,03 | 0,23 ± 0,03 | 0,32 ± 0,02* |
| 120 | 0,24 ± 0,01 | 0,22 ± 0,01 | 0,21 ± 0,008 |
| 192 | 0,23 ± 0,003 | 0,23 ± 0,003 | 0,23 ± 0,003 |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

Teste "t" Student

TABELA 11 – Efeito da Ternatina sobre a concentração de bilirrubina total (BT) em lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em ratos.

| TEMPO (h) | CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE TG (mg/100ml) - (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
|-----------|--|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | TERNATINA + CCl ₄ |
| 24 | 109,5 ± 12,6 | 120,5 ± 4,1 | 126,2 ± 10,5 |
| 72 | 40,0 ± 4,0 | 62,6 ± 3,5** | 40,0 ± 2,3 |
| 120 | 42,9 ± 19,5 | 142,0 ± 69** | 135,0 ± 23,6** |
| 192 | 37,3 ± 5,0 | 38,6 ± 3,0 | 121,0 ± 20** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 12 – Efeito da Ternatina sobre a concentração dos triglicerídeos séricos (TG) em lesões hepáticas induzidas por tetracloreto de carbono (CCl₄) em ratos.

| TEMPO (h) | ATIVIDADE PROTROMBÍNICA EM SEGUNDOS (TP) - (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
|-----------|--|------------------|------------------------------|
| | CONTROLE | CCl ₄ | TERNATINA + CCl ₄ |
| 24 | 15,03 ± 0,57 | 14,60 ± 0,22 | 14,70 ± 0,48 |
| 72 | 14,02 ± 0,40 | 13,32 ± 0,20 | 14,26 ± 0,48 |
| 120 | 14,41 ± 0,07 | 15,05 ± 0,26* | 15,03 ± 0,13** |
| 192 | 14,96 ± 0,24 | 14,97 ± 0,17 | 15,15 ± 0,10 |

n = valor da média corresponde a 6 animais

* significativamente diferente do grupo controle (p < 0,05)

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 13 – Efeito da Ternatina sobre o tempo de protrombina plástica (TP) em lesões hepáticas induzidas por tetracloreto de carbono (CCl₄) em ratos.

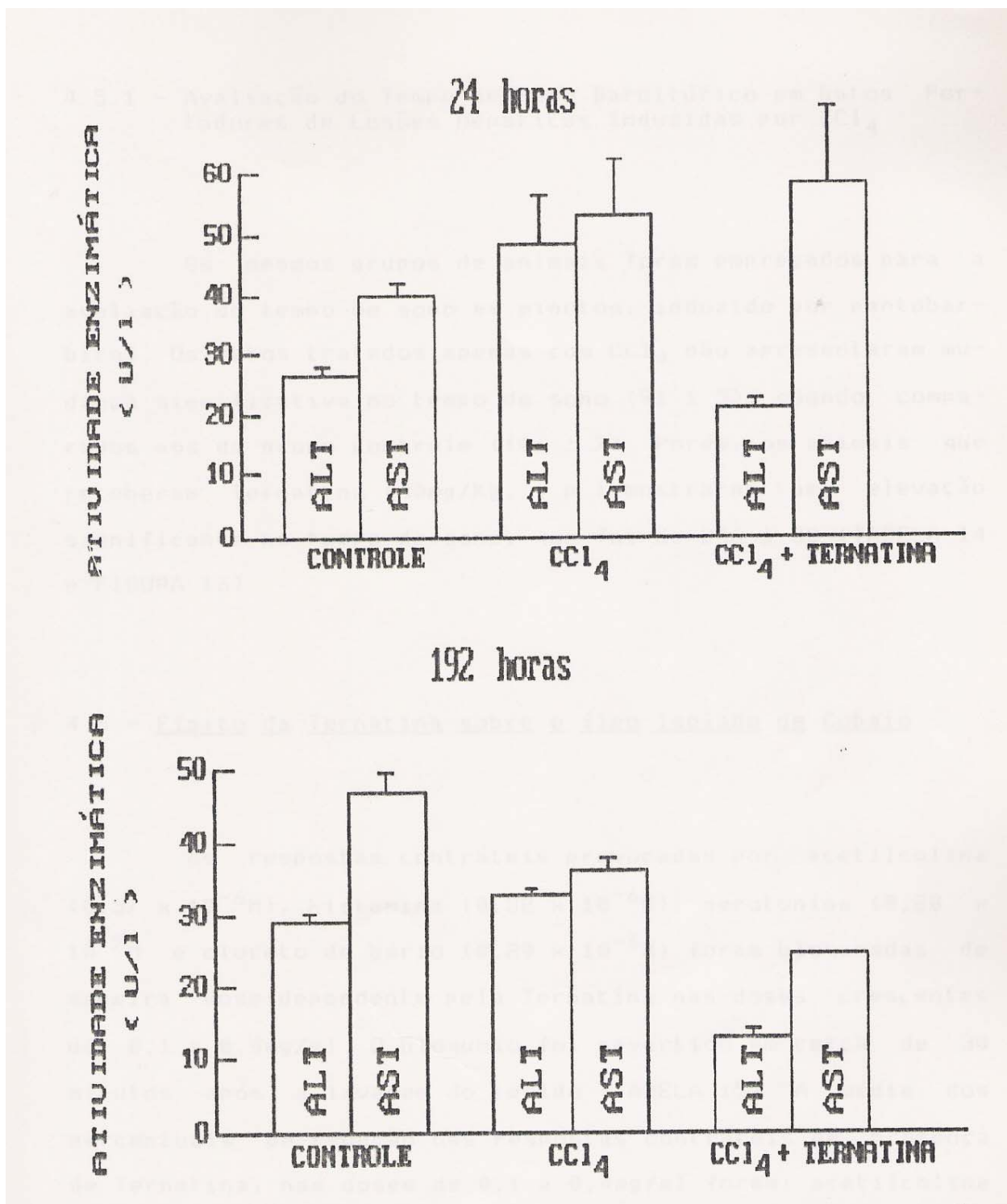


FIGURA 15 – Efeito da Ternatina em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em 24 e 192 horas.

4.5.1 Avaliação do Tempo de Sono Barbitúrico em Ratos Portadores de Lesões Hepáticas Induzidas por CCl_4

Os mesmos grupos de animais foram empregados para a avaliação do tempo de sono em minutos, induzido por pentobarbital. Os ratos tratados apenas com CCl_4 não apresentaram mudança significativa no tempo de sono (91 ± 5), quando comparados ao grupo controle (101 ± 7). Porém, os animais que receberam Ternatina (30 mg/kg, i.p.) mostraram uma elevação significativa no tempo de sono, que foi de 246 ± 38 (TABELA 14 e FIGURA 16).

4.6 Efeito da Ternatina sobre o Íleo Isolado de Cobaio

As respostas contráteis provocadas por Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6}\text{M}$), Histamina ($0,32 \times 10^{-6}\text{M}$), Serotonina ($0,28 \times 10^{-7}$) e Cloreto de Bário ($0,20 \times 10^{-6}\text{M}$) foram bloqueadas de maneira dose-dependente pela Ternatina nas doses crescentes de 0,1 a 0,4 mg/mL. O bloqueio foi revertido em cerca de 30 minutos após a lavagem do tecido (TABELA 15). A média dos percentuais de redução das respostas contráteis em presença da Ternatina, nas doses de 0,1 a 0,4 mg/mL foram: Acetilcolina ($65,4 \pm 0,5$; $72,3 \pm 2,0$ e $81,0 \pm 2,1$), Histamina ($54,9 \pm 6,4$; $69,0 \pm 4,2$ e $77,9 \pm 3,4$), Serotonina ($29,6 \pm 5,1$; $40,6 \pm 5,3$ e $42,0 \pm 4,8$) e Cloreto de Bário ($20,7 \pm 10,4$; $30,2 \pm 11,6$ e $27,0 \pm 9,9$).

| TRATAMENTO | TEMPO DE SONO EM MINUTOS (MÉDIA ⁿ ± E.P.) |
|------------------------------|---|
| CONTROLE (VEÍCULO) | 101 ± 7 |
| CCl ₄ | 91 ± 5 |
| CCl ₄ + TERNATINA | 246 ± 38** |

n = valor da média corresponde a 6 animais

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 14 – Avaliação do tempo de sono barbitúrico em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄).

Nem a Ternatina nem o veículo (DMSO 5% em salina) provocaram quaisquer efeitos “per si” sobre o tecido estudado. Portanto, o resultado obtido com os agonistas acima referidos, foi Acetilcolina > Histamina > Serotonina > Cloreto de Bário (TABELA 15 e FIGURA 17, 18, 19, 20, 21 e 22).

4.7 Atividade Citotóxica

4.7.1 Efeito da Ternatina sobre a Citotoxicidade em Cultura de Tecido

O composto em estudo não mostrou atividade citotóxica significativa sobre as células da linhagem KB, visto que, a concentração efetiva da droga necessária para impedir o crescimento celular ($CyED_{50}$) foi de 100 $\mu\text{g/mL}$. Nos ensaios preliminares de toxicidade aguda em camundongos, observou-se que a Ternatina não apresentou efeito tóxico em doses de até 1.000 $\mu\text{g/kg}$, via intraperitoneal.

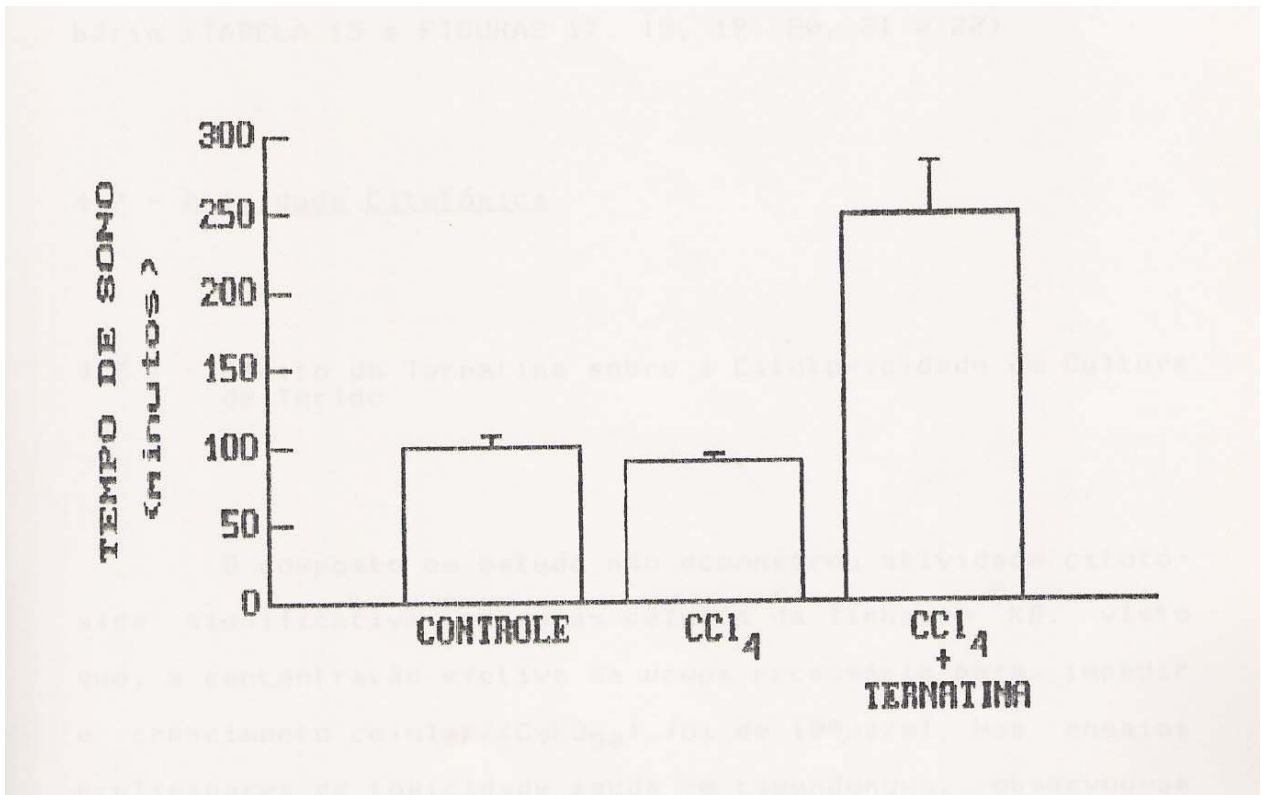


FIGURA 16 – Avaliação do tempo de sono barbitúrico em ratos portadores de lesões hepáticas induzidas por Tetracloreto de Carbono (CCl₄).

| AGONISTAS | DOSE (M) | PERCENTAGEM DE REDUÇÃO DA RESPOSTA CONTRÁTIL EM PRESENÇA DE TERNATINA NAS DOSES (mg/ml) | | |
|------------------|-----------------------|---|---------------|--------------|
| | | (MÉDIA ⁿ ± E.P.) | | |
| | | 0,1 | 0,2 | 0,4 |
| ACETILCOLINA | $0,57 \times 10^{-6}$ | 65,4 ± 0,5** | 72,3 ± 2,0** | 81,0 ± 2,1** |
| HISTAMINA | $0,32 \times 10^{-6}$ | 54,9 ± 6,4** | 69,0 ± 4,2** | 77,9 ± 3,4** |
| SEROTONINA | $0,28 \times 10^{-7}$ | 29,6 ± 5,1** | 40,6 ± 5,3** | 42,0 ± 4,8** |
| CLORETO DE BÁRIO | $0,20 \times 10^{-6}$ | 20,7 ± 10,4** | 30,2 ± 11,6** | 27,0 ± 9,9** |

n = valor da média corresponde a 4 experimentos

** significativamente diferente do grupo controle (p < 0,01)

Teste "t" Student

TABELA 15 – Efeito da Ternatina sobre as concentrações induzidas por agonistas em íleo isolado de cobaio.

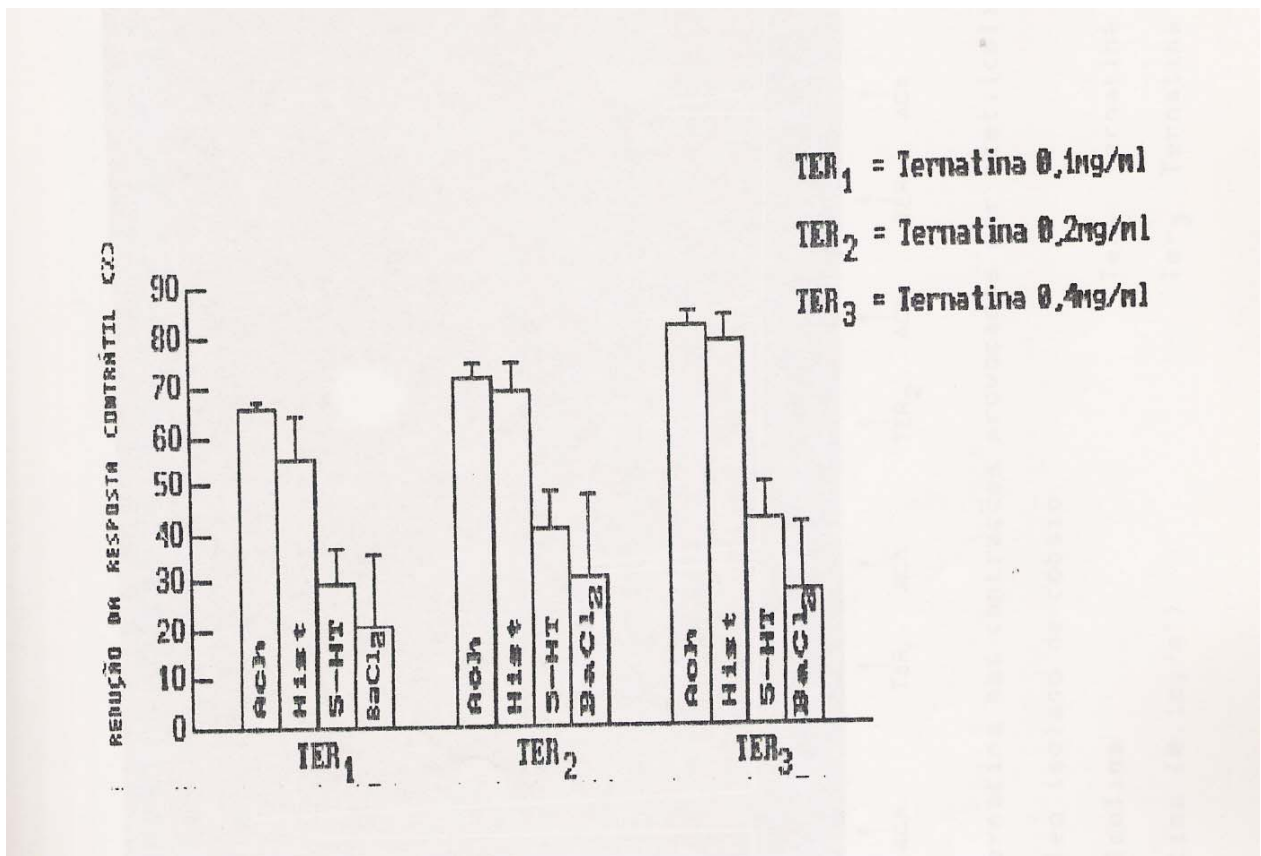


FIGURA 17 – Efeito da Ternatina nas concentrações provocadas por agonistas em íleo isolado de cobaio.

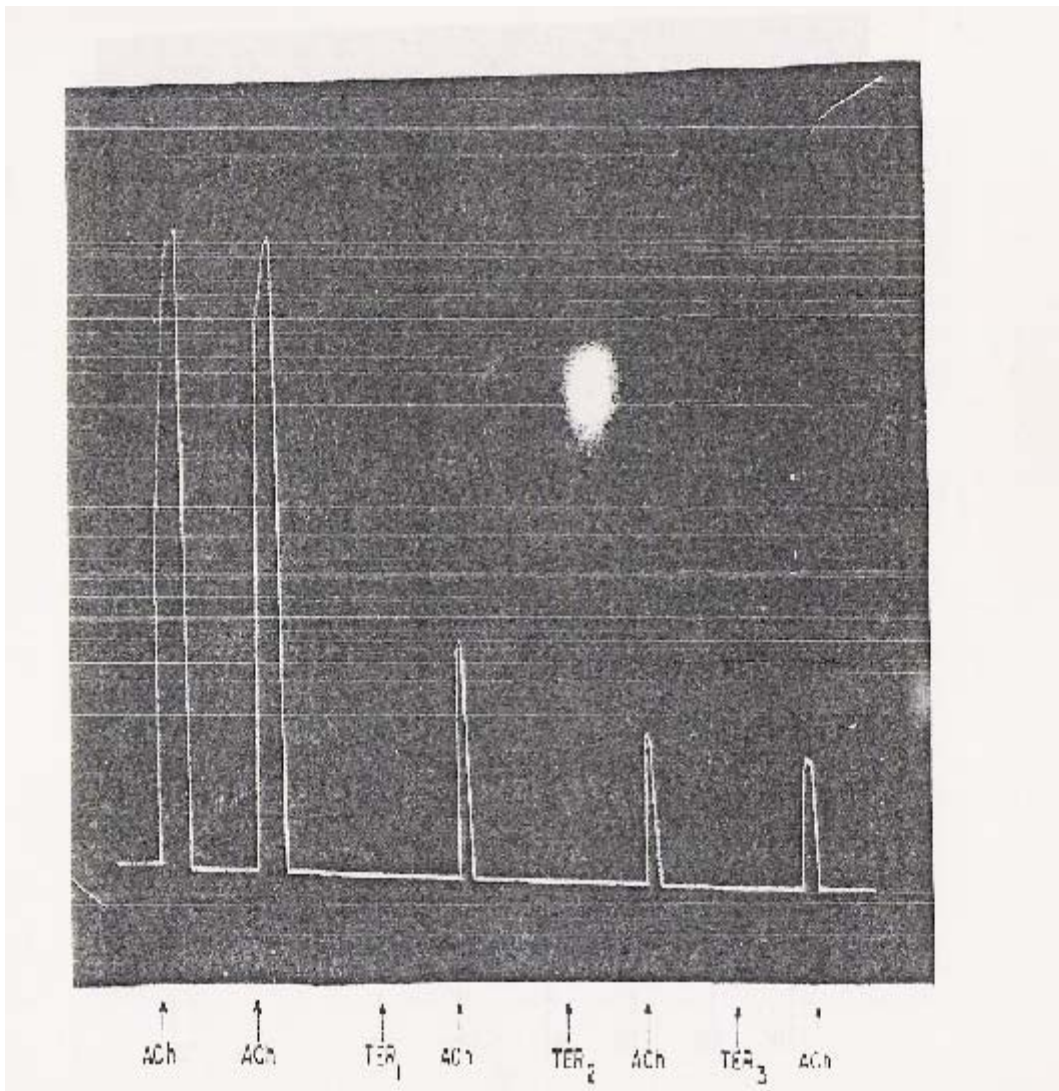


FIGURA 18 – Efeito da Ternatina nas concentrações provocadas por Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6} \text{ M}$) em íleo isolado de cobaio.

Ach: Acetilcolina

Ter₁: Ternatina (0,1 mg/mL)

Ter₂: Ternatina (0,2 mg/mL)

Ter₃: Ternatina (0,4 mg/mL)

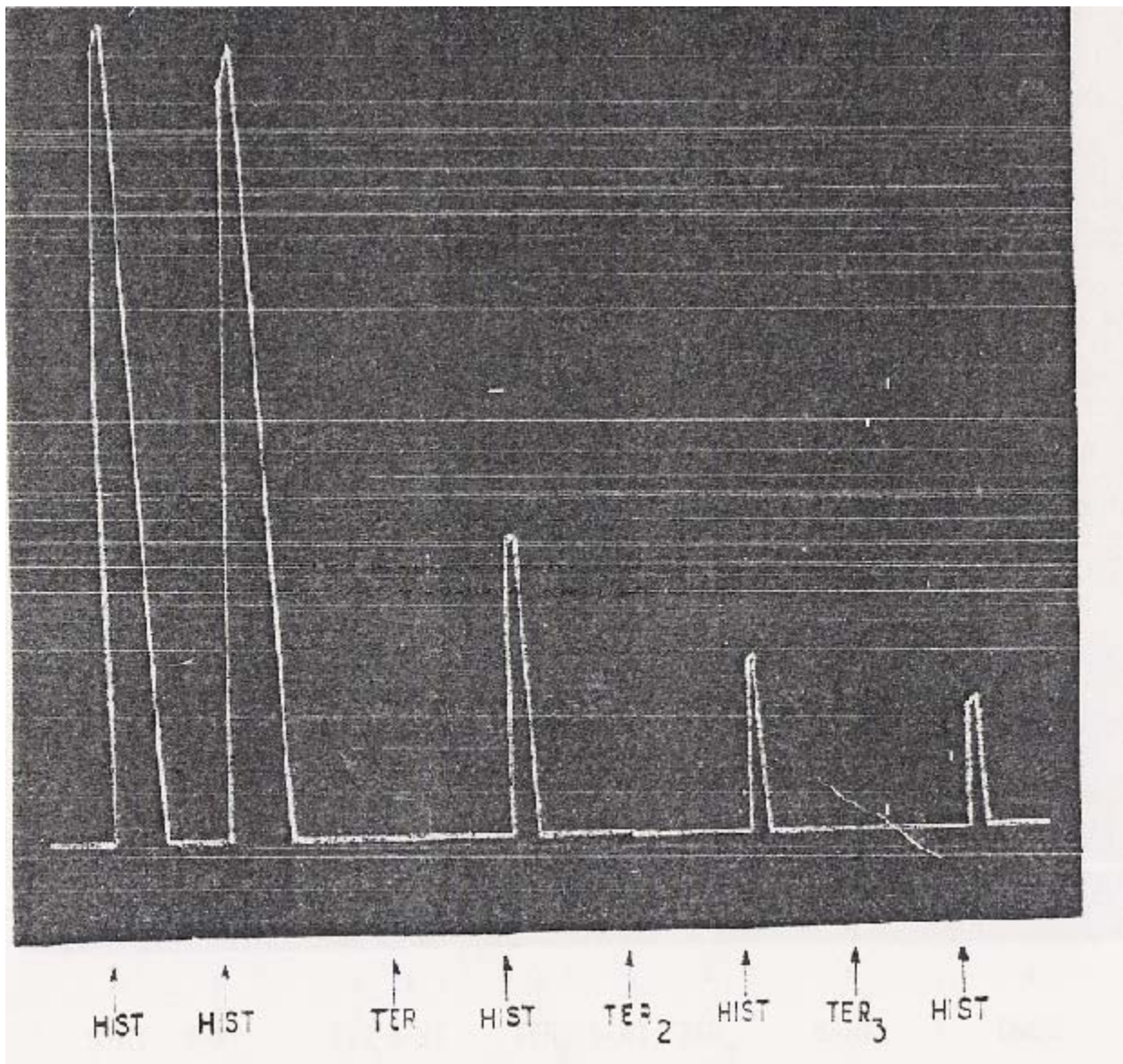


FIGURA 19 – Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Histamina ($0,32 \times 10^{-6}$ M) em íleo isolado de cobaio.

Hist: Histamina

Ter₁: Ternatina (0,1 mg/mL)

Ter₂: Ternatina (0,2 mg/mL)

Ter₃: Ternatina (0,4 mg/mL)

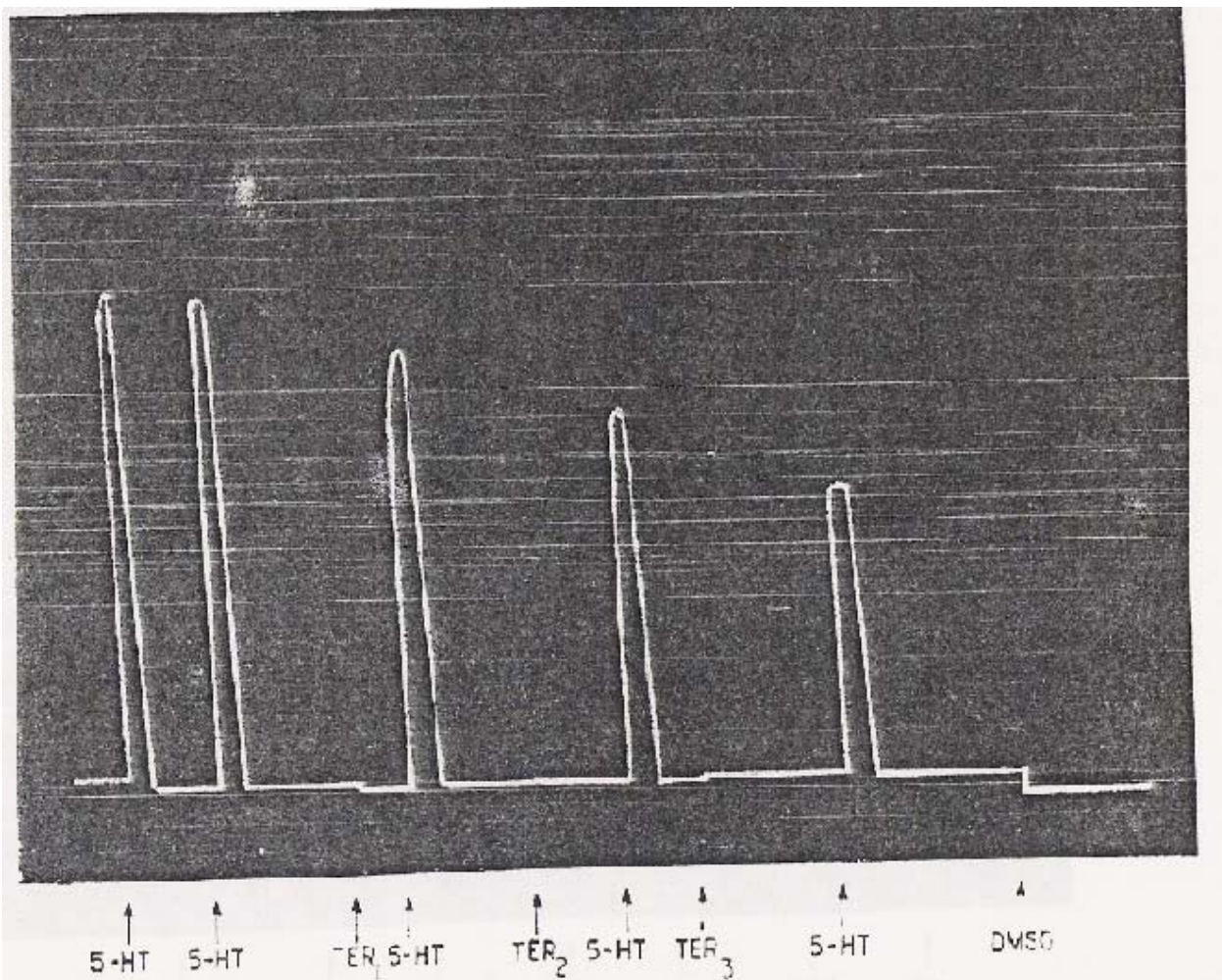


FIGURA 20 – Efeito da Ternatina nas concentrações provocadas por Serotonina ($0,28 \times 10^{-7}$) em íleo isolado de cobaio.

5-HT: Serotonina

Ter₁: Ternatina (0,1 mg/mL)

Ter₂: Ternatina (0,2 mg/mL)

Ter₃: Ternatina (0,4 mg/mL)

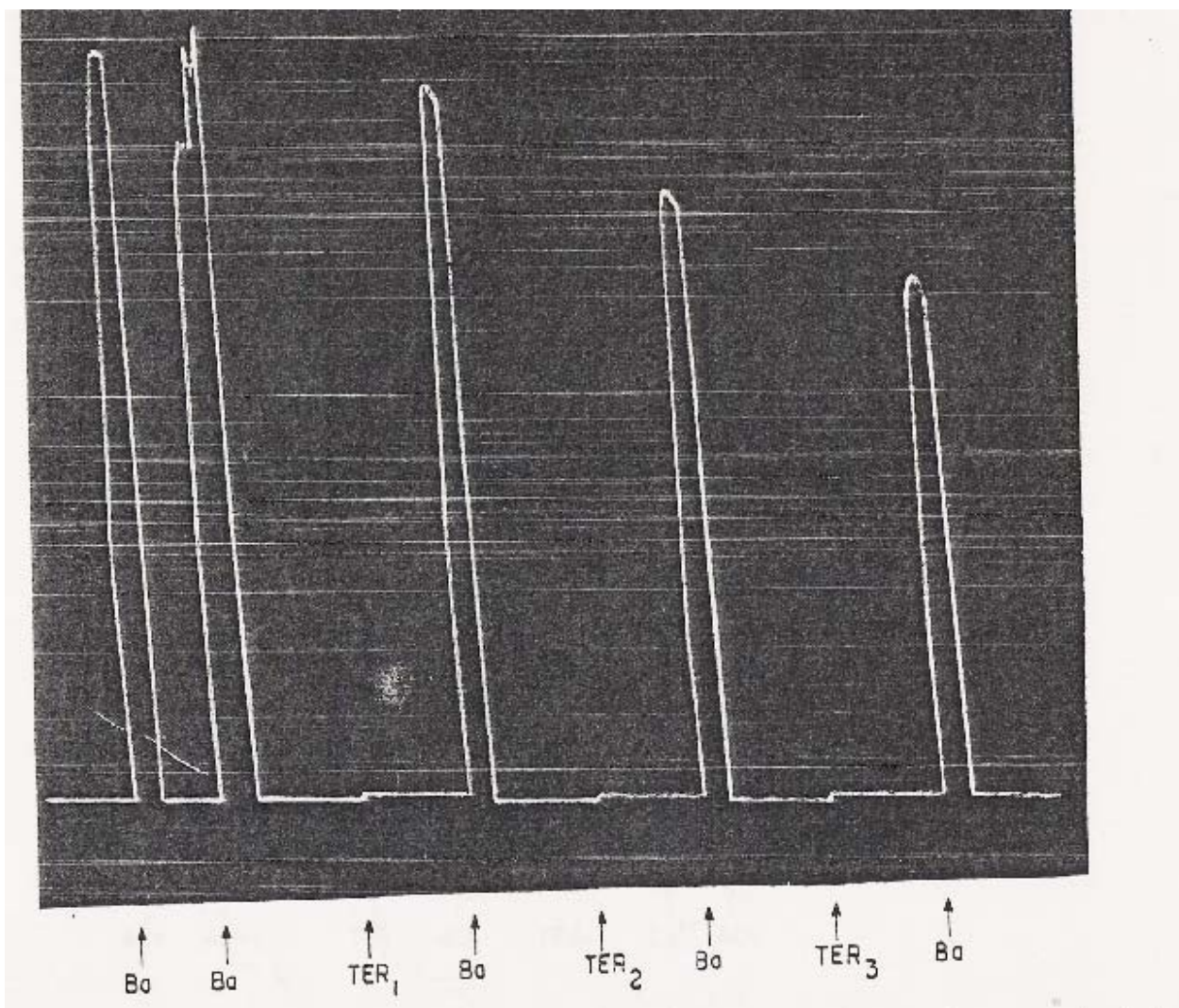


FIGURA 21 – Efeito da Ternatina nas concentrações provocadas por Cloreto de Bário ($0,20 \times 10^{-6} \text{M}$) em íleo de cobaio.

Ba: Cloreto de Bário

Ter₁: Ternatina (0,1 mg/mL)

Ter₂: Ternatina (0,2 mg/mL)

Ter₃: Ternatina (0,4 mg/mL)

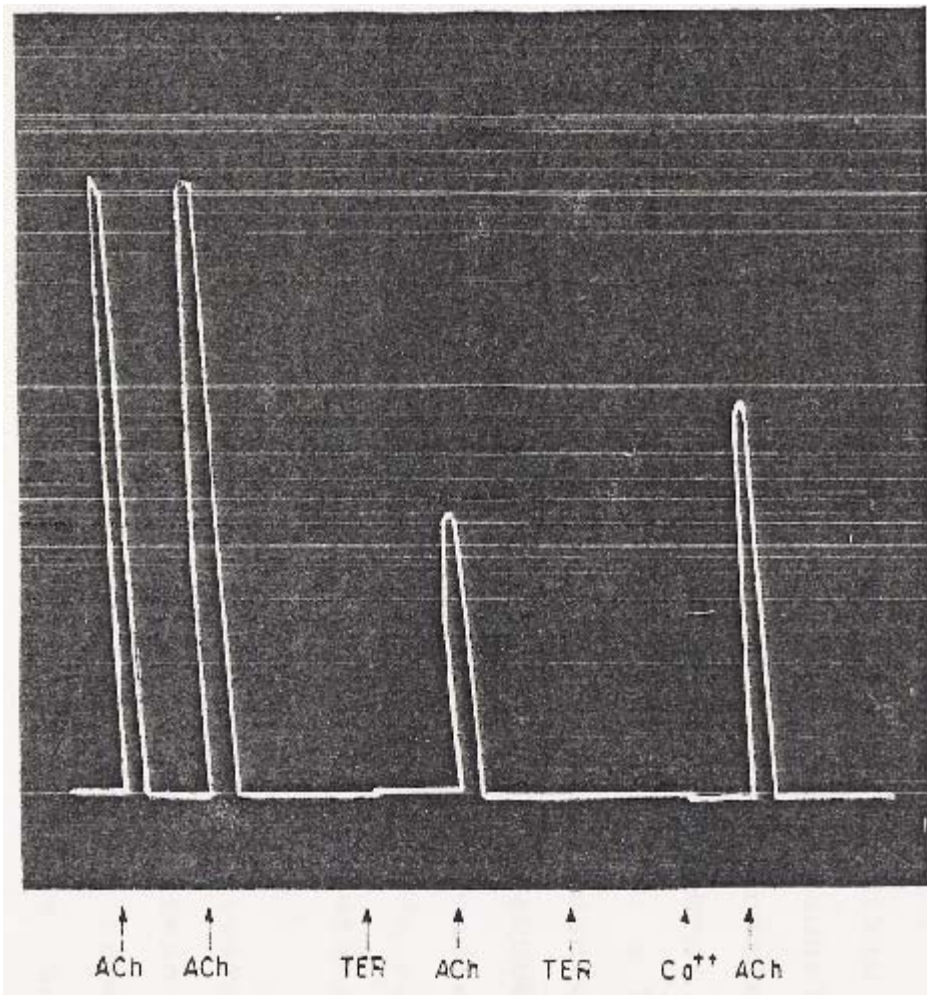


FIGURA 22 – Efeito da Ternatina nas contrações provocadas por Acetilcolina ($0,57 \times 10^{-6} \text{M}$) em íleo isolado de cobaio.

Ach: Acetilcolina

Ca^{++} : Cloreto de Cálcio

Ter: Ternatina (0,4 mg/mL)

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho estabelecem que a Ternatina, produto de ocorrência natural, um tetrametoxiflavona isolado de *Egletes viscosa*, é portador de diferentes atividades farmacológicas.

A Ternatina (15 e 30 mg/kg, i.p.) inibiu efetivamente a formação do edema provocado pela injeção subplantar de carragenina na pata posterior de rato. Neste modelo de processo inflamatório agudo, o composto mostrou menor potência que a da indometacina. Na dose antiinflamatória, a Ternatina foi também eficaz na prevenção da dor em camundongos, observada pelo antagonismo da síndrome de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Além do mais, o flavonóide evidenciou uma propriedade antipirética equivalente à do paracetamol no modelo de pirexia causada pela injeção subcutânea de levedura de cerveja em rato.

A Ternatina antagonizou, significativamente, o extravasamento de permeabilidade capilar, demonstrando possuir um expressivo valor para uso na clínica médica como droga antiinflamatória (RINAHART, 1955). Uma atividade anti-hialuronidase dos flavonóides foi descrita anteriormente (BEILER & MARTIN, 1947). A hialuronidase é conhecida por atuar na polimerização do ácido hialurônico do endotélio capilar e produzindo desta forma aumento na permeabilidade vascular (GHOSH *et al.*, 1963). Essas observações revelam uma absoluta correlação entre o efeito antiedematoso e a redução da permeabilidade capilar, sugerindo que o efeito protetor da Ternatina sobre o aumento da atividade antiinflamatória de alguns flavonóides pode ser a liberação e subsequente metabolismo do ácido araquidônico (MIDDLETON, 1984). A fosfolipase A₂ (PLA₂) é a principal responsável pela hidrólise e liberação do ácido araquidônico (AA) da membrana fosfolipídica, sendo um processo dependente do influxo de cálcio (LANDS & ROME, 1976). A liberação do araquidonato é processada pelas vias da ciclooxigenase (CO) e lipoxigenase (LD) para a síntese de endoperóxidos, prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos por um lado e ácido hidroperóxido, ácido hidroieicosatetraenóico, lipoxinas e leucotrienos por outro (MONCADA & VANE, 1979; SAMUELSSON *et al.*, 1987). Flavonóides tais como circiliol, silibyna, quercetina, (+)-catequina, hypolaetina-8-glicosídeo foram descritos como substâncias inibidoras da

atividade de PLA₂, LO e/ou CO em graus variados de efetividade (BAUMANN *et al.*, 1980; LEE *et al.*, 1982; YAMAMOTO *et al.*, 1984; ALCARAZ & HOULT, 1985a e 1985b). Deste modo a inibição das enzimas PLA₂, LO e/ou CO pode ser responsável pela atividade antiinflamatória.

A Ternatina inibiu, significativamente, o edema inflamatório induzido por carragenina, onde os metabólitos do ácido araquidônico pela via da cicloxigenase (prostaglandinas) desempenham um papel predominante (VENEGAR *et al.*, 1987). As prostaglandinas parecem estar envolvidas na resposta das contorções abdominais provocadas por ácido acético e na pirexia produzida por levedura de cerveja. Ternatina demonstrou eficiência na redução do número de contorções abdominais, após injeção intraperitoneal de ácido acético em camundongos e foi capaz de antagonizar o efeito pirético causado por levedura de cerveja em ratos. Por essa razão, é concebível supor que a Ternatina inibe a biossíntese das prostaglandinas contribuindo para o efeito antiinflamatório deste composto. Os flavonóides em geral têm uma propriedade antioxidante (HARBORNE & MABRY, 1982) e inibem a secreção de histamina dos mastócitos e basófilos (MIDDLETON & DRZEWIECZKI, 1984; AMELLAL *et al.*, 1985). Se Ternatina possui ou não essas propriedades, torna-se necessária a realização de futuros estudos para a confirmação dos resultados descritos neste trabalho.

Além de demonstrar efeitos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos, a Ternatina exibiu também uma ação gastroprotetora contra lesões gástricas induzidas por álcool etílico absoluto (etanol) em camundongos. Os mastócitos da mucosa gástrica estão envolvidos na patogênese da lesão do estômago causada pela administração de etanol (OATES & HAKKINEN, 1988). A perturbação dos mastócitos da mucosa gástrica parece estar na liberação de mediadores vaso ativos, especialmente a histamina e o peptido leucotrieno, leucotrieno C₄ (LTC₄), os quais, por seu turno, provocam um extremo engurgitamento dos capilares da mucosa gerando intensa hiperemia e edema.' Essas alterações podem ser fortemente antagonizadas por substâncias inibidoras da atividade da lipoxigenase ou por drogas antihistamínicas do tipo H₁. Visto que a Ternatina oferece melhor resultado que a clorfeniramina (antihistamínico H₁) é presumível que este bioflavonóide apresente essa ação protetora possivelmente através da inibição da lipoxigenase.

Diversos estudos anteriormente realizados, estabeleceram que os flavonóides podem inibir as enzimas lipoxigenase e sugerem que este fato é válido para o emprego da 15-lipoxigenase, extraída da soja como teste primário para a identificação de compostos semelhantes que tenham efeito contra a 5-lipoxigenase dos mamíferos, enzima importante na biossíntese dos leucotrienos (ALCARAZ & HOULT, 1985b). Outros pesquisadores propuseram que, para efetiva inibição da lipoxigenase da soja, é necessário que o flavonóide possua um grupamento carbonila na posição 4, uma hidroxila em 4' e nenhuma substituição no carbono C₂. O composto em estudo reúne completamente essas condições e, portanto, é racional supor que por isso tem a capacidade de inibir a atividade da lipoxigenase e, desse modo, explica em parte as atividades antiinflamatórias e gastroprotetoras observadas.

As hepatites viróticas e alcoólicas continuam a ser ainda hoje, um dos principais problemas de saúde. A medicina moderna oferece poucos recursos para a cura dessas doenças. Diversas plantas conhecidas pelos indígenas são descritas como sendo usualmente empregadas nas hepatites a vírus. Estudos prévios têm estabelecido que os princípios ativos dessas drogas são também flavonóides (HAHN *et al.*, 1968; KISO *et al.*, 1984; PERRISSOUD *et al.*, 1985). Suas avaliações clínicas são difíceis em virtude da variada e auto-limitante natureza da doença. O ensaio experimental foi realizado principalmente em ratos para a verificação do efeito protetor contra lesões induzidas por tetracloreto de carbono (BARUA *et al.*, 1970; KISO *et al.*, 1984). Por conseguinte, este modelo foi utilizado no presente trabalho para estabelecer a ação hepatoprotetora da Ternatina. Nesse estudo é interessante notar a especificidade dessa droga nas alterações enzimáticas frente a uma única injeção de CCl₄. Diferente de AST e ALP, o nível de ALT mostrou um significativo aumento no período de 24 horas após administração de CCl₄, persistindo até 72 horas. Isso demonstra que a atividade de ALT é elevada no fígado e muito baixa em outros tecidos. Por outro lado, AST é encontrada em alta concentração no coração, na musculatura esquelética e nos rins, originária dos danos hepáticos provocados por CCl₄, além de outros tecidos. Por essa razão, os níveis plasmáticos de ALT oferecem informações seguras para a avaliação das lesões hepatocelulares, enquanto que os de AST não são indicadores das doenças no fígado.

Esta enzima é a mais específica para o diagnóstico das cardiopatias, necroses cardíacas, sendo que estes efeitos são vistos após 48 horas.

O efeito da Ternatina é considerável na prevenção do aumento da atividade de ALT induzida por CCl₄, indicando com isso ter ação hepatoprotetora. A redução dos níveis de várias enzimas (ALT, AST e ALP) observada em 192 horas, reflete um possível efeito inibitório da Ternatina sobre múltiplos sistemas enzimáticos, particularmente quando o tratamento é prolongado. Esta observação é concordante com trabalhos anteriormente publicados sobre as propriedades gerais dos flavonóides (HAVSTEEN, 1983).

Em circunstâncias patológicas, como na hepatite, acontece uma inversão nos valores plasmáticos das transaminases. Os níveis de ALT ficam mais elevados que os de AST. Isto se deve principalmente à localização celular dessas enzimas, pois 60% de AST total estão no citoplasma e 40% ligados às mitocôndrias, enquanto que 100% de ALT total estão presentes no citoplasma. Neste caso, alterações da permeabilidade da parede celular do hepatócito, como ocorrem na hepatite, resultam em liberação de maior quantidade de ALT para o sangue (LOPEZ, 1969).

O exato mecanismo de hepatotoxicidade induzida por CCl₄ e a proteção oferecida pelo flavonóide Ternatina não estão com clareza ainda. O CCl₄ atua em parte desorganizando os constituintes lipídicos das membranas celulares e lesando o retículo endoplasmático liso dos hepatócitos (GOLDBLATT, 1972; DI LUZIO, 1972; TAPPEL 1973; SODEMAN & SODEMAN, 1974). Ainda de acordo com UHLEKE *et al.* (1973) e ROBBINS & COTRAN (1979), o efeito tóxico do CCl₄ não é devido à sua molécula, mas à conversão desta a um radical livre extremamente tóxico, o CCl₃ que seria produzido por ação enzimática microsomal pertencente ao sistema monoxigenase dependente do citocromo P₄₅₀. Os radicais livres causam oxidação de ácidos graxos polienóicos presentes nos fosfolipídios da membrana.

Alguns flavonóides naturais e sintéticos têm significativo efeito sobre o sistema enzimático monoxigenase dependente de citocromo P₄₅₀. A indução e ativação deste sistema por certos flavonóides foram descritas por WATTEMBERG *et al.* (1968) e WIEBEL *et al.* (1971), onde igualmente o efeito inibitório de outros poucos flavonóides foi relatado por BUENING *et al.* (1981), VYAS *et al.* (1983) e SOUSA & MARLETTA

(1985). Os estudos da relação estrutura química e atividade revelam que substituições na posição 4' das flavonas provocam marcada influência na função do citocromo P₄₅₀ (WATTEMBERG, 1968). Desta maneira, o íon brometo na posição 4' aumenta consideravelmente a indução enzimática. A introdução de grupamento metoxi na molécula das flavonas exercem pouco ou nenhum efeito sobre a propriedade indutiva, enquanto a saturação da dupla ligação C₂ – C₃ parece anular a atividade. Os compostos flavonóides que apresentam um grupamento hiroxila na posição 4' são conhecidos por demonstrarem potente inibição da enzima citocromo P₄₅₀ e podem interferir com o metabolismo oxidativo das substâncias lipofílicas (WOOD *et al.*, 1986). A Ternatina é portadora desta característica estrutural. Portanto, a atenuação da hepatotoxicidade causada por CCl₄ e o aumento do tempo de sono por pentobarbital observados em animais tratados com ternatina se devem possivelmente à inibição enzimática de citocromo P₄₅₀.

A capacidade da Ternatina em inibir o metabolismo das drogas lipofílicas tipo pentobarbital, pode ter significativa importância farmacológica e toxicológica. Os possíveis efeitos desse flavonóides sobre o metabolismo dos compostos lipofílicos, constituintes normais do organismo, tais como esteróides, ácidos biliares e também sobre o metabolismo de xenobióticos, incluindo drogas terapêuticas, carcinógenos, inseticidas e outros poluentes ambientais podem ser considerados e investigações adicionais são necessárias para determinar até onde a Ternatina pode influenciar “in vivo” o metabolismo destes agentes.

Existem relatos de que alguns flavonóides são portadores de atividade citotóxicas e antineoplásicas (MIDDLETON, 1984). A inibição de enzimas mitocondriais por estes compostos parece contribuir para a existência de tais efeitos (BOHMONT & PARDINI, 1979). Contudo, no presente trabalho, a Ternatina não manifestou citotoxicidade expressiva para as células da linhagem KB. A concentração efetiva da droga necessária para impedir o crescimento celular (CyED₅₀) foi de 100 µg/ml.

Extratos de *Egletes viscosa* são usados em medicina caseira no controle das diarreias e cólicas. Por essa razão, alguns experimentos foram tentados no sentido de verificar o efeito da Ternatina sobre o trânsito gastrointestinal com camundongos e nas respostas contráteis provocadas por acetilcolina, histamina, serotonina e cloreto de

bário em íleo isolado de cobaio “in vitro”. Os resultados obtidos mostram que o composto estudado inibiu o trânsito gastrointestinal em camundongos, além de diminuir, reversivelmente, as contrações da musculatura intestinal causadas por várias agonistas. A inibição das contrações do músculo liso não está relacionada com os agonistas empregados, implicando que os flavonóides suprimem uma função bioquímica induzida por agonistas, essencial para a geração da contração muscular.

A influência inibidora sobre a contração da musculatura lisa não é prerrogativa da Ternatina, visto que diferentes flavonóides tais como quercetina, hesperetina, tangeretina, também possuem semelhante propriedade (MACANDER, 1986).

Ternatina pode inibir a contratilidade das células do músculo liso em respostas à ação dos agonistas por antagonizar a recaptação ou mobilização de cálcio. Por outro lado, uma elevação dos níveis intracelulares de AMPc pode causar diminuição da contração de musculatura lisa, considerando que os flavonóides são capazes de inibir a fosfodiesterase e assim aumentar as concentrações intracelulares de AMPc (BERETZ *et al.*, 1978; GRAZIANI & CHAYOT, 1979).

O efeito inibitório da Ternatina sobre as concentrações musculares induzidas por agonistas foi observado como aumento gradativo da concentração de cálcio no banho. Isto implica que o composto afeta os processos dependentes de cálcio celular. Embora o mecanismo preciso de ação da Ternatina aguarde elucidação, ela tem a capacidade de inibir os processos dependentes de cálcio, tais como a contratilidade do músculo liso atividade secretória podendo torna-se útil como agente antiespasmódico e antidiarréico.

Uma importante característica dos flavonóides em geral (HAVSTEEN, 1983), do extrato de *Egletes viscosa*, (RAO *et al.*, 1982) e da Ternatina, em particular, é a sua baixa toxicidade. Nos testes de toxicidade aguda, utilizando-se camundongos, foi observado que a Ternatina em doses de até 1000 mg/kg i.p. (cerca de 33 vezes maior que a dose antiinflamatória em ratos para a supressão do edema por carragenina) não apresentou toxicidade, sendo que o valor da DL₅₀ não pôde ser estabelecido por falta de material em estudo, para o qual seriam necessárias numerosas doses. A combinação de propriedades antiinflamatórias, gastro e hepatoprotetoras, juntamente

com a baixa toxicidade, podem transformar este flavonóide em um atrativo candidato para o uso como agente terapêutico no tratamento de perturbações digestivas.

BREKHMAN & DARDIMOV (1969) mostraram que certos extratos de plantas possuem significativa atividade antiestresse nos animais e no homem. Essa situação de resistência induzida por drogas foi denominada atividade adaptogênica e estas, conhecidas por adaptógenos. A descoberta da “ação adaptogênica das drogas” tem sido extensiva à medicina popular com referência às plantas medicinais em diferentes partes do mundo. O conceito de ação adaptogênica é baseado na evidência de que substâncias derivadas do fenilbenzo- γ -pyrone, metoxiflavonóide e compostos relativos, sintetizados por vegetais com ações viral, antifúngica e bacterostática (McCLURE, 1977), quando consumidos através da dieta, podem ser absorvidos pelo organismo e conferir resistência inespecífica para as doenças em ambos, animais e homem (ROBBINS, 1975). Então é possível que a Ternatina, uma metoxiflavona, isolada de *Egletes viscosa* possua igualmente uma ação adaptogênica. No presente estudo a Ternatina demonstrou propriedades antiinflamatórias, analgésicas, antipiréticas, gastro e hepatoprotetoras. Os modelos experimentais utilizados para verificar estes efeitos envolvem estresse induzido por uma variedade de fatores, sendo, portanto, racional presumir que a Ternatina é portadora de atividade antiestressante. O estresse é conhecido por suprimir a resposta imune e os adaptógenos são capazes de provocar ativação do sistema imune (SALOMON *et al.*, 1985). Por isso é importante que se investigue o efeito da Ternatina sobre as imunidades celular e humoral para a obtenção de informações válidas do ponto de vista farmacológico.

Concluindo, os resultados desse estudo sugerem que a Ternatina possui um amplo espectro de atividade farmacológica. Ela não é apenas um constituinte químico de *Egletes viscosa*. Trabalhos anteriores indicaram a presença de ácido centipédico e de 12-acetoxi-hautriwaico-lactona no extrato hexânico desta planta (SILVEIRA *et al.*, 1989).

Mesmo assim, a ternatina pode ser o principal constituinte responsável pelas atividades farmacológicas, cujas ações concorrem para o uso racional do extrato bruto de *Egletes viscosa* na medicina popular.

6. CONCLUSÕES

1. O presente estudo evidencia que a Ternatina, um tetrametoxi-flavona, possui amplo espectro de atividades farmacológicas, indicando ser esta uma das principais substâncias ativas de *Egletes viscosa*.
2. A Ternatina não exerce somente ação antiinflamatória, mas possui também eficácia como droga antipirética e analgésica periférica, representando assim, outro exemplo de agente não esteróide semelhante à aspirina. Contudo, diferente desta, o flavonóide tem a capacidade pouco comum, mas extremamente benéfica de proteger a mucosa gástrica contra a irritação, hemorragias e lesões celulares.
3. A observação do efeito supressor da Ternatina sobre o trânsito gastrointestinal e sobre as respostas contráteis induzidas por agonistas na musculatura lisa *in vitro*, indica que ela pode ser útil como agente antiespasmódico e antidiarreico.

Um específico e significativo aumento dos níveis de alanina-aminotransferase (ALT) em 24 horas foi observado após uma única injeção de CCl₄ (2 mL/kg) em ratos. Visto que a medida da atividade de ALT é um parâmetro considerável para a avaliação de lesões agudas do fígado, este modelo pode servir de instrumento para a identificação rápida de compostos com prioridades hepatoprotetoras. Neste experimento, a Ternatina diminuiu significativamente a elevação sanguínea de ALT induzida por CCl₄, evidenciando um efeito de proteção hepática.

4. A capacidade da Ternatina de inibir o metabolismo de drogas lipofílicas do tipo pentobarbital, pode ter uma significativa importância farmacológica e toxicológica. Pesquisas suplementares são necessárias para determinar até que ponto a Ternatina pode influenciar o metabolismo de substratos endógenos e xenobióticos.

5. É pouco provável que a ternatina possua atividade antitumoral significativa, já que ela exibiu citotoxicidade muito baixa ($CyED_{50} = 100 \mu\text{g/mL}$).

6. A combinação das propriedades antiinflamatórias, gastro e hepatoprotetoras do flavonóide, aliada à sua natureza não tóxica, torna-o um candidato atrativo na conduta terapêutica das perturbações digestivas.

ABSTRACT

Ternatin (5, 4'-dihydroxy-3, 7, 8, 3'-tetramethoxy-flavone), a flavonoid which was extracted and purified from *Egletes viscosa*, Less. (Compositae), was screened for various pharmacological effects in experimental animals.

The compound (15 and 30 mg/kg, i.p.) demonstrated a dose-related significant anti-inflammatory effect in the carrageenan-induced rat hind paw test. In this model, indomethacin (5 mg/kg, p.o.), a known nonsteroidal anti-inflammatory drug (NASID), evidenced a much greater potency than to Ternatin. At similar doses, Ternatin effectively reduced the increase in vascular permeability induced by acetic acid in mice, a property common to many of the flavonoids.

In mice, Ternatin (15 and 30 mg/kg, i.p.) failed to modify the reaction time in Eddy's hot plate ($55\pm 1^\circ\text{C}$) test, but in writhing test induced by acetic acid, it significantly reduced the number of abdominal contractions (writhes) in a dose-dependent manner indicating a possible peripheral analgesic property. Ternatin also showed antipyretic activity in the rat model of pyrexia induced by Brewer's Yeast. Its activity at 30 mg/kg, i.p., was almost equivalent to that produced by paracetamol (250 mg/kg, p.o.).

The gastroprotective effect of Ternatin was evident in the model of acute gastric hyperemia provoked by ethanol 99% in mice. Ternatin at doses of 30 and 60 mg/kg, i.p., significantly reduced the development of ethanol induced hyperemic changes in the stomach. Besides, Ternatin (30 mg/kg, i.p.) demonstrated hepatoprotective property by causing significant inhibition of carbon tetrachloride (CCl_4) – induced increases in serum alanine-aminotransferase (ALT) in rats.

In rats treated with Ternatin (30 mg/kg, i.p.) for eight consecutive days, the pentobarbital-induced sleeping times was found to be significantly higher than vehicle treated controls what means signifies the possible depressant effect of the compound on drug metabolizable enzymes in liver and/or other organ systems.

Ternatin (15 and 30 mg/kg, i.p.) inhibited, in a dose-dependent manner the gastrointestinal propulsion in mice. In addition, Ternatin (10 to 40 $\mu\text{g/mL}$ in bath fluid) produced an effective reversible inhibition of contractile responses evoked by various

agonists (acetylcholine, histamine, serotonin and barium chloride) in isolated guinea pig ileum. The inhibition was observed to be inespecific and could be overcome by an increase in the Ca^{++} concentration of bathing fluid implying that Ternatin affects cellular calcium dependent processes.

In KB-cell lines, Ternatin evidenced low cytotoxicity. The effective drug concentration required to inhibit the growth of KB-cells (CyED_{50}) was found to be 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Ternatin and the crude extracts of *Egletes viscosa* evidenced low order of general toxicity. The present findings on Ternatin, together with the reported antiviral activity against polioviruses and adenoviruses suggest that it might be the unique active compound present in *Egletes viscosa* and this may be the scientific basis for the extensive use of plant crude extracts in popular medicine for treating gastrointestinal disturbances.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL, O. P. The anti-inflammatory action of nepitrin, a flavonóide. Agent Actions, 12:298, 1982.
- ALCARAZ, M. J. & HOULT, J. R. S. Effects of hypolaetin-8-glucoside and related flavonoids on soyabean lipoxigenase and snake venenon phospholipase A₂. Arch. Ind. Pharmacodyn., 278:4, 1985.
- ALCARAZ, M. J. & JIMENEZ, M. J. Flavonoids as anti-inflammatory agents. Fitoterapia, 59:25-38, 1987.
- ALCARAZ, M. J.; FERNADIZ, M. L.; VILLAR, A. Flavonoid inhibition os soybean lipoxigenase. Pharmacie, 41(4) :299-300, 1986.
- AMELLAL, M., BRONNER, C.; BRIANCON, F.; HAAG, M.; ANTON, R.; LANDRY, Y. Inhibition of mast cell histima release by flavonoids and bioflavonoids. Planta Med., 52 : 16,1985.
- ANAND, K. K.; SHARMA, M. L.; SINGH, B.; GHATAK, B. J. Antiinflamatory, antipyretic and analgesic properties of bavachinin-a flavone isolated from seeds of Psoralea coryfolia, Linn. Indian J. Exp.Biol., 16(11):1216-7, 1978.
- BARUA, A. K.; CHAKRABARTI, P.; DAS, K. G. apud WAGNER, H. Antihepatotoxic flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr, E.; HARBORNEJ. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, 545-58, 1986.
- BAUMANN, J.; VON BRUCHHAUSEN, F.; WURM, G. Flavonoids and related compounds as inhibitors of arachidonic acid peroxidation. Prostaglandins, 20:627-39, 1980.
- BEILER, J. M. & MARTIN, G. J. The inhibition action of vitamin P compounds on hialuronidase. J. Biol. Chem., 171:507- 11, 1947.
- BÉLADI, I.; PUSZTAI, R.; MUCSI, I.; BAKAY, M.; GARBOR, M. Activity of some flavonoids against viruses. Ann. N.Y. Acad. Sci., 70:358 – 64, 1965.
- BENNETT, J. P.; COMPERTS, B. D.; WOLLENWEBER, E. apud RACKER, E. Effect of quercetin on ATP – driven pumps and glycolysis. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., HARBORNE, J.B. eds. Plant Flavonoids in biology and medicine: biochemical,

pharmacological and structure activity relationships. New York, Alan R. Liss, 257-71, 1986.

BERETZ, A.; ANTON, I.; STOCKLET, J. C. Flavonoid compounds are potent inhibitors of cAMP phosphodiesterases. Experientia, 34:1054-5, 1978.

BERGSTEIN, N. A. M. Clinical study on the efficacy of O-(B-hidroxymethyl)-rutosidasas (HR) in varicisid of pregnancy. J. Int. Med. Res., 3:189-93, 1975.

BERTELLI, A. New trends in the therapy of liver diseases. Basel, Karger, 92-9, 1975.

BERTON, G.; SCHNEIDER, C.; ROMED, D. Inhibition by quercetin of activation of polymorphonuclear leucocyte functions: Stimulies specific effects. Biochem. Biophys. Acta, 595(1):47-55, 1980.

BLAZSÓ, G. & GÁBOR, M. Edema- inhibiting effect of procyanidine. Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., 56:235, 1986.

BOH MONT, C. W. & PARDINI, R. S. Inhibition of mitochondrial respiration and ATPase by flavonoids: A structure-activity study. Fed. Proc., 38:541, 1979.

BOHR, D. F.; McIVOR, B. C.; RINEHART, J. F. The effects of various flavone glycosides on the rate of passage of Evans blue through the damaged capillary wall. J. Pharmacol. Exp. Ther., 97:243-9, 1949.

BREKHMANN, I. I. & DARDYMOV, I. V. New substances of plant origin which increase non-specific resistance. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 9:419-30, 1969.

BROWN, J. P.; DIETRICH, P. S.; BROWN, R. J. Frameshift mutagenicity of certain naturally occurring phenolic compounds in the Salmonella/Microsome test. Activation of anthraquinone and flavonol glycosides by gut bacterial enzymes. Biochem. Soc. Trans., 5:1489-92, 1977.

BUENING, M. K.; CHANG, R. L.; HUANG, M. T.; FORTINER, J. G.; WOOD, A. W.; CONNEY, A. H. Activation and inhibition of benzo (a) pyrone and aflatoxin B on metabolism in human liver microsomes by naturally occurring flavonoids. Cancer Res., 41:67, 1981.

BUSSE, W. W.; KOPP, D. E.; MIDDLETON Jr., E. Flavonoid modulation of human neutrophil function. J. Allergy Clin. Immunol., 73:801, 1984.

CARPENEDO, F.; BORTIGNON, C.; BRUNI, A. SANTI, R. Effect of quercetin on membrane linked activities. Biochem. Pharmacol., 18:1495-500, 1969.

CARVEL, R. I. & HALPERIN, V. Therapeutic effect of water soluble bioflavonoids in gingival inflammatory conditions. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., 14:847-55, 1961.

CHABÁS LÓPEZ, J. Las enzimas en el diagnostico de las afecciones digestivas. In: ----. Enzimologia. Barcelona, Científico-Médica, Cap. 19, p.411, 1969.

CHURCH, M. K. Cromoglycate-like anti allergic drugs: a review. Drugs Today, 14:281, 1986.

COLLIER, H. O. J. & SCHNEIDER, C. Nociceptive response to prostaglandins and analgesic action of aspirin and analgesic action of aspirin and morphine. Nature, 234:141-3, 1972.

CUNHA, C. A. B. Saúde, a prioridade esquecida. Petrópolis, vozes, 133p, 1987.

CUTRONEO, K. R.; SEIBERT, R. A.; BRESNICK, E. Induction of benzopyrene hydroxilase by flavone and its derivative in fetal rat lever explants. Biochem. Pharmacol., 21:937- 45, 1972.

CUTTING, W. C.; DREISBACH, R. H; FUSAKO, M. ANTIVIRAL CHEMOTHERAPY. 6. Parenteral and other effects of flavonoids. Stanford Med. Bull., 11:227-9, 1953.

DANDIYA, P. C. & CULLUBINE, H. Studies on *Acorus calamus* - II some pharmacological actions of the volatide oil. J. Pharmacol. Epx. Ther., 125:353-9, 1959.

DELLA LOGGIA; TUBARO, A. DRI, P.; ZILLI, C.; DEL NEGRO, P. The role of flavonoids in the anti- inflammatory activity of *Chamomilla recutita*. Prog. Clin. Biol. Res., 213:481, 1986.

DENNO, R. F. & McCLURE, M. S. apud SWAIN, T. The evolution of flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J.B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, .p. 1-14, 1986.

DI LUZIO, N. R. Antioxidants, lipid peroxidation and chemical induced liver injury. Fed. Proc., 32:1859, 1973.

DOMENJOZ, R. Sur la mecanisme d'action des substances antiinflamates. Actual Tes Pharmacol., 7:73, 1954.

EAGLE, H. Aminoacid metabolism in mamalian cell culture. Science, 130:438, 1955.

----- . Propagation in fluid medium of a human epidermóide carcinoma strain KB. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 89:362-4, 1959.

EDDY, N. B. & LEIMBACH, D. Synthetic analgesic II. Dithienyl butenyl and dithienylbutylamines. J. Pharmacol. Exp. Ther., 107:385-93, 1953.

FALCAO, A. C. M. G.; PAGANELLI, M. S. L.; SOUZA, S. M.; ALMEIDA, S. H. M. Consumo de medicamentos pela população da zona norte da cidade de Londrina. Saúde em Debate, (22): 85-9, 1988.

FEWTRELL, C. M. S. & GOMPERS, B. D. Effect of flavone inhibitors of transport ATPases on histamina secretion from rat mast cells. Nature, 265:635-6, 1977a.

----- . Quercetin: a novel inhibitor of Ca⁺⁺ influx and exocytosis in rat peritoneal mast cells. Biochem. Biophys. Acta, 469:52-60, 1977b.

FOURIE, T. G. & SNYCKERS, F. O. A flavone with anti- inflammatory activity from the roots of Rhus undulate. J. Nat. Prod., 47:1057, 1984.

FUGIKI, H.; TANAKA, Y. MIYAKE, R.; KIKKAWA, U.; NISHIZUKA, Y.; SUGIMURA, T. Activation of calcium- activated, phospholipids-dependent protein kinase (protein kinase C) by new classes of tumor promoters: teleocidin and debromoaplysiatoxin. Biochem. Biophys. Res Commun., 120:339-43, 1984.

FUJITA, Y.; YAMEWE, T.; TANAKA, M.; KUWATA, K.; OKUSUMI, J.; TAKAHASHI, T.; FUJIKI, H.; OKUDA, T. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse duodenum. Jpn. J. Cancer Res., 80:503-5, 1989.

GABOR, M. Antiinflammatory and anti-allergic properties of flavonoids. CODY, V.; MIDDLETON Jr.; E.; HARBORNE J.B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, 471-80, 1986.

----- . Pharmacologic effect of flavonóide on blood vessels. Angiologica, 9:355-74, 1972a.

GABOR, M. (1979) apud ----- . Anti-inflammatory and anti-allergic properties of flavonoids. CODY, V.; MIDDLETON Jr.; E.; HARBORNE J.B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 471-80, 1986.

GABOR, M. & ENGI, E. Naturally occurring flavonoids with antiinflammatory activity. Kiserl. Orvostud., 36:170, 1984.

GAJDOS, A.; GAJDOS-TÖROÖK, M.; HORN, R. The effect of (+) catechin on the hepatic level of ATP and the lipid content of lever during experimental steatosis. Biochem Pharmacol., 21:595, 1972.

GHOSH, M. N.; BANERJEE, R. M.; MUKHERJEE, S. K. Capillary permeability increasing property of hialuronidase in rat. Ind. J. Physiol. Pharmacol., 7:17-211, 1963.

GOLDBLATT, P. J. Molecular pathology of endoplasmatic reticulum. Sub/Cell Biochem., 1:147, 1972.

GRAZIANI, Y & CHAYOTH, R. Regulation of cAMP level and synthesis of DNA, RNA and protein by quercetin in E.A.T. cells. Biochem. Pharmacol., 28:397-403, 1979.

GUPTA, M. B.; BHALLA, T. N.; GUPTA, G. P.; MITRA, C. R.; BHARGAVA, K. P. Anti-inflammatory activity of taxifolin. Jap. J. Pharmacol., 21:377-82, 1971.

GUTH, P. H.; PAULSEN, G.; NAGATA, H. Histologic and microcirculatory changes in alcool- induced gastric lesions in the rat: effect of prostaglandins cytoprotection. Gastroenterology, 87:1083-90, 1984.

HAHN, G.; LEHMANN, H. D.; KURTEN, M.; UEBEL, H.; VOGEL, G. apud WAGNER H. Antihepatotoxic flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, 545-58, 1986.

HARBONE, J. B. Nature distribution and function of plant flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBONE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 15-24, 1986.

----- apud PIERPOINT, W. S. Flavonoids in the human diet. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 125-40, 1986.

HARBONE, J. B. & MABRY, T. J. apud HARBONE, J. B. Nature distribution and function of plant flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 15-24, 1986.

- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochem. Pharmacol., 32:1141-48, 1983.
- HENNINGS, G. apud PERRISSOUD, D. The development of cyanidanol and 3-palmitoyl-(+)-catechin as drugs for the treatment of liver diseases. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 559-69, 1986.
- HERMANN, K. Flavonols and flavones in food plants: a review. J. Fd. Technol., 11:433-48, 1976.
- HIKINO, H.; TAGUCHI, T.; FUJIMURA, H.; HIRAMATSU, Y. Anti-inflammatory principles of Caesalpinia sappan wood and of Haematoxylon camachianum wood. Planta Med., 31:216, 1977.
- HILLEBRECHT, J. The routine assay of anti-philogistic compounds in the rat food test. Arzneimittelforschung, 4:607-14, 1954.
- HURLEY, J. V. Acute inflammation. London, Churchill livingstone, p. 33-50, 1972.
- ILARIONOV, I.; RAINOVA, L.; NAKOV, N. Antiinflammatory and antiulcer effect of some flavonoids isolated from the genus GENISTA. Farmatsiya, 29(6):39-46, 1979.
- ISHITSUKA, H.; OHSAWA, C.; OHIWA, T.; UMEDA, I.; SUHARA, Y. Antipicornavirus flavone RO 09-0179. Antimicrob. Agents Chemother., 22:611-6, 1982a.
- ISHITSUKA, H.; NINOMIYA, Y. T.; OHSAWA, C.; FUJIU, M.; SUHARA, Y. Direct and specific inactivation of rhinovirus by chalcone RO 09-0410. Antimicrob. Agents Chemother., 22:617-21, 1982b.
- KINOSHITA, J.H. Mechanisms initiating cataract formation: proctor lecture. Invest. Ophthalmol., 713-24, 1974.
- KISO, Y.; AGASAWARA, S.; HIROTA, K.; WATANADE, N.; OSHIMA, Y.; KONNO, C. H.; HIKINO, H. Antihepatotoxic principles of Artemisia capillaries buds. Planta med., (1):81-5, 1984.
- KOSTER R.; ANDERSON, M.; DEBEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. Fed. Proc., 18:412, 1959.
- KUHNAU, J. The flavonoids: a class of semi-essential food components. Their role in human nutrition. World Rev. Nutr. Diet, 24:117- 91, 1976.

- LAHAUN, H. & PERUCKER, H. Methoden der organischen chemie. Stuttgart, E. Muller, p. 962, 1975.
- LANDS, W. E. M. & ROME, L. H. Inhibition of prostaglandin biosynthesis. In: KARIM, S. ed. Prostaglandins: chemical and biochemical aspects. Baltimore, University Park, p. 87-137, 1976.
- LANOLFI, R.; MOWER, R. L.; STEINER, M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Biochem. Pharmacol., 33:1525, 1984.
- LEE, T-P; MATTELIANO, M. L.; MIDDLETON Jr., E. Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and phospholipid metabolism. Life Sci., 31:2765 – 74, 1982.
- LIPKAN, G. N.; MAKSYUTINA, N. P.; VOITENKO, G. N.; POGODINA, L. I. Pharmacological action of polyphenols of ROBINIA RACEMES. Farm. Zh. (Kiev), (3):50-3, 1981.
- LOCKETT, M. F. & JARMAN, D. A. Assay of the capillary action of flavonóide compounds in mice. Br. J. Pharmacol., 13:11-16, 1958.
- MACANDER, P. J. Flavonoides effects acetylcholine prostaglandin E₂ and antigen-mediated smooth muscle contraction. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 489-92, 1986.
- MACELA da terra. In BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3 ed. Fortaleza, 1976.
- McCLURE, J. W. The physiology of phenolic compounds in plants. In: SWAIM, T.; HARBONE, J. B.; VAN SUMARE, C. F. eds. The Biochemistry of Plant Phenolics. New York, Plenum Press, p. 525, 1977.
- MAGNUS, R. Versughe am umberlebem den dundarm von sangetieren. I Mittrelung. Arch. F. D. Gr. Physiol., 102:123-51, 1904.
- MASTERS, O. J.; SPRUCE, K. E.; VICKERS, V. C.; McMILLAN, R. M. Measurement of arachidonate metabolism using cyanopropyl mini columns: effects of cyclo-oxygenase and lipoxigenase inhibitors. Br. J. Pharmacol., 84(suppl):45p, 1985.
- MATOS, F. J. A. Farmácias vivas. Fortaleza, 1990.

- . Plantas úteis e medicinais do Nordeste. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. Teresina, 1981.
- MEYERS, K. & COFFEY, J. W. Differential effects of cyclooxygenase (CO) and A⁵ – lipoxygenase (LO) inhibitors on carragean (CG) pleurisy in the rat. Fred. Proc., 43:388, 1984.
- MIDDLETON Jr., E. The flavonoids. TIPS, 5:335-8, 1984.
- MIDDLETON Jr., E. & DRZEWIECZKI, G. Flavonoid inhibition of human basophil histamine release stimulated by various agents. Biochem. Pharmacol., 33:3333, 1984.
- . Naturally occurring flavonoids and human basophil histamine release. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 77:155, 1985.
- MONCADA, S. & VANE, J. R. Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. Pharmacol. Rev., 30:293-331, 1979.
- NIWA, M.; CHEN, X. F.; LIN, TATEMATSU, H.; HIRATA, Y. Structure of isochamaejasmin from *Stellera chamaejasme* L. Chem. Lett., :1587,1984.
- OATES, P. J. & HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. Gastroenterology, 94:10-21, 1988.
- OTSUKA, H.; FUJIOKA, S.; KOMIYA, T.; MIZUTA, E.; TAKAMOTO, M. Studies on anti-inflammatory agents. VI Antiinflammatory constituents of *Einnamamum siebaldii*, Neissn. Yakugaku Zasshi, 102(2):162-72, 1982.
- PARMAR, N. S. & GHOSH, M. N. Antiinflammatory activity of gossypin a bioflavonoid isolated from *Hibiscus vilifolius*, Linn. Ind. J. Pharmacol., 10:277-93, 1978.
- . Current trends in flavonóide research. Ind. J. Pharmacol., 12:213-28, 1980.
- . Effect of gossypin a flavonoid on the formation of galactose induced catacacts in rats. Exp. Eye. Res., 29:229-32, 1979.
- . Gastric anti-ulcer activity of (+)-cyanidanol-3, a histidine decarboxylase inhibitor. Eur. J. Pharmacol., 69(1):25-32, 1981.
- . Protective effect of some bioflavonoids on the X-irradiation induced increase in capillary permeability of rat intestine. Int. J. Exp. Biol., 15:311-3, 1977.
- PERRISSOUD, D. The development of cianidanol and 3-palmitoyl-(+)-catechin as drugs for the treatment of liver diseases. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B.

eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 559-69, 1986.

PERRISSOUD, D. & MAIGNAN, M. F.; DDUMONT, J.M. Antinecrotic effect of 3-palmitoyl-(+)-cathchin against liver damage induced by galactosamine or ethanol in the rat. Liver, 5:55, 1985.

PIERPOINT, W.S. Flavonoids in the human diet. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 125-40, 1986.

PIO CORREIA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, v. 5. p. 19, 1974.

PRABHAKAR, M. C.; BANO, H.; KUMAR, I.; SHAMSI, M. A.; KHAN, M. S. Pharmacological investigations on vitixin. Planta Med., 43(4):396-403, 1981.

QUICK, A. J. apud BIOBRÁS Diagnósticos. Tromplastina. Prospecto.

RAINOVA, L. & GAKHNIYAN, R. Changes of the resistance of the capillary walls in rats under the effect of flavonoids isolated from Genista L. (*leguminosae*). Farmatsiya, 28(5):39-42, 1978.

RAO, V. S. N.; MENEZES, A. M. S.; GADELHA, M. G. T. Antifertility screening of some indigenous plants of Brasil. Fitoterapia, 59:17-20, 1988.

REITMAN, S. & FRANKEL, S. apud DIAGNÓSTICO LABTEST. Transaminase oxalacética. Belo Horizonte. p.67-8, 1987.

----- apud DIAGNÓSTICO LABTEST. Transaminase pirúvica. Belo Horizonte. p.69-70, 1987.

RENEHART, J.M. Rheumatic fever: observations on the histogenesis, pathogenesis and use of ascorbic acid and bioflavonoids. Ann. N. Y. Acad. Sci., 61:684-99, 1955.

RIZZO, José A. Plantas medicinais e tóxicas. 2p (mimeografado).

ROBBINS, R. C. Action in human blood of methoxylated flavones which confer disease resistance on both plants and animals: concept of a dietary conditional mechanism of defense against disease. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 45:51-60, 1975.

ROSE, S. S. A report on the use of hydroxyethyl rutosides in symptoms due to venous back pressure and allied conditions in the lower limbs. Br. J. Clin. Pract., 24:161-4, 1970.

ROY, A. V. apud DIAGNÓSTICO LABTEST. Fosfatase alcalina. Belo Horizonte. p. 37-8, 1987.

RUSZNYAK, I & SZENT-GYORGYI, A. Vitamin P: flavonoids as vitamins. Nature, 138:27, 1936.

SAMUELSSON, B.; DAHLEN, S. E.; LINDGREN, F. A.; ROUZER, C. A.; SERHAN, C. N. Leukotrienes and lipoxins: structures, biosynthesis and biological effects. Science, 237:1171-6, 1987.

SEKIYA, O. & OKUDA, H. Selective inhibition of platelet lipoxigenase. Biochem. Biophys. Res. Commun., 105: 1090, 1982.

STECHEL, K. D. R.; BORR II, S. P.; HULME, P.; KIRK, D. N.; AXELSON, M. Non-steroidal estrogens of dietary origin-possible role in hormone dependent disease. Am. J. Clin. Nutr., 40:569-78, 1984.

SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; MACEDO, L. M. B. Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste: *Egletes viscosa* Less. Ciênc. Cult., 41(7suppl):511, 1989.

SIMÕES, C. M. O.; L.GIRRE, M. A.; GLEYE, J; FLAVEL, M. Th. Antiviral activity of ternatina and meliternation, 3-methoxyflavones from species of Rutaceae. Apresentado no "Brazilian-Sino Symposium on Chemistry and Pharmacology of Natural Products", 1989. Datilografado.

SIMÕES, E. R. B.; TORRES DA SILVA, E. A.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A. S.; VIANA, G. S. B. Pharmacological effects of active principles of *Egletes viscosa*, Less. In: SIMPÓSIO BRASIL-CHINA DE QUÍMICA E PRODUTOS NATURAIS. Rio de Janeiro, p.177, 1989.

SIMS, F. H. & HORN, C. apud DIAGNÓSTICO LABTEST. Bilirrubina. Belo Horizonte. p.11-2, 1987.

SINGER, P.; CAMPOS, O.; OLIVEIRA, E. M. Prevenir e curar. Rio de Janeiro, Forense, p. 9-10, 1978.

- SODEMAN, W. A. & SODEMAN Jr., W. A. Pathologic physiology: mechanism of disease. 5. ed Philadelphia, Saunders, p. 970-1, 1974.
- SOLOMON, G. F.; AMKRAUT, A. A.; RUBIN, R. T. In: BURCCHFIELD, S. R. ed. Stress, psychological and physiological interactions. Wshington, Hemisphere, p.99, 1985.
- SOLONI, F. G. apud DIAGNÓSTICO LABTEST. Triglicérides. Belo Horizonte. p. 71-2, 1987.
- SOUSA, R. L. & MARLETTA, M. A. Inhibition of cytochrome P₄₅₀ activity in rat liver microsomes by the naturally occurring flavonoid, quercetin. Arch. Biochem. Biophys., 240:345, 1985.
- SUGIMURA, T.; NAGAO, M.; MATSUSHIMA, T.; YAHAGI, T.; SEINO, Y.; SHIRAI, A.; SAWAMURA, M.; NATORI, S.; YOSHIHIRA, K.; FUKUOKA, M.; KUROYANAGI, M. Mutagenicity of flavone derivatives. Proc. Japan Acad., 53:194-7, 1977.
- SUOLINNA, E. M.; BUCHSBAUM, R. N.; RACKER, E. The effect of flavonoids on aerobic glycolysis and growth of tumor cells. Cancer Res., 35:1865-72, 1975.
- SWAIN, T. the evolution of flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr., E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 1-14, 1986.
- SWARNALAKSHMI, T.; GOMATHI, K.; SULOCHANA, N.; BASKAR, E. A.; PARMAR, N. S. Antiinflammatory activity of (-)-epicatechin a bioflavonoid isolated from *Anacardium occidentale*, Linn. Ind. J. Pharmacol. Scii, 43(6):205-8, 1981.
- TAPPEL, A. L. Lipid peroxidation damage to cell components. Fed. Proc., 32:1870, 1973.
- UHLEKE, H.; HELLMER, K. H.; TABARELLI, S. Binding of ¹⁴C-carbon tetrachloride to microsomal proteins in vitro and formation of CHC₁₃ by reduced liver microsomes. Xenobiotica, 3:1-11, 1973.
- VALLE, J. R. Discurso de Abertura. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL. 5º, São Paulo, 1978.
- VAN CAUWENBERGE, H.; LECOMTE, J.; FRANCHIMONT, P. De la recherche experimentale à la recherche clinique dans le domaine des affections capilairo-veineuses. Vie Med., 50(suppl):108-16, 1969.

VAN HOOFF, L.; VANDEN BERCHE, D.; HATFIELD, G.; VLIETINCK, A. Plant anti-viral agents. V. 3-methoxyflavones as potent inhibitors of viral-induced block of cell synthesis. Planta Med., 50:513-7, 1984.

VARMA, S. D.; MIKUNI, I.; KINOSHITA, J. H. Flavonoids as inhibitors of lens aldose reductase. Science, 188:1215-6, 1975.

VARMA, S. D.; MIKUNI, A.; KINOSHITA, J. H. Diabetic cataracts and flavonoids. Science, 195:205-6, 1977.

VIEIRA, N. F. C. & SABOIA, S. M. N. Ervas práticas caseiras e saúde. Fortaleza, Imprensa Oficial, 144p, 1982.

VILLAR, A.; GASCO, M. A.; ALCARAZ, M. J. Anti-inflammatory and anti-ulcer properties of hypolaetin-8-glucoside, a novel plant flavonoid. J. Pharm. Pharmacol., 36:820-3, 1984.

VYAS, K. P.; SHIBATA, T.; HIGHET, R.; YEH, H.; THOMAS, P. E.; RYAN, D. E.; LEVIN, W.; JERINA, D. M. Metabolism of naphthoflavone and β -naphthoflavone by rat liver microsomes and highly purified reconstituted cytochrome P₄₅₀ systems. J. Biol. Chem., 258:5-649, 1983.

WAGNER, H. Antihepatotoxic flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr.; E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 545-8, 1986.

WATTENBERG, L. W.; PAGE, M. A.; LEONG, J. L. Induction of increase benzpyrene hydroxylase activity by flavones and related compounds. Cancer Res., 28:934, 1968.

WHITTLE, B. A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. Br. J. Pharmacol., 22:246-53, 1964.

WIEBEL, F. J.; LEUTZ, J.; DIAMOND, L.; GELBOIN, H. V. Aryl hydrocarbon (benzo [a] pyrene hydroxylase in microsomes from rat tissues: differential inhibition and stimulation by benzoflavones and organic solvents. Arch. Biochem. Biophys., 144:78, 1971.

WINDER, C. V.; WAX, J.; BEEN. M. A. Rapid food volume measurements on anaesthetized rats and the questions of phenilbutazone effects on anaphylactoid oedema. Arch. Int. Pharmacodyn., 112:174, 1957.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan induced oedema in hind paw as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111:544-7, 1962.

WOOD, A. W.; SMITH, S. D.; CHANG, R.L. Effects of flavonoids on the metabolism of xenobiotics. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr.; E.; HARBORNE J.B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure – activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 195-210, 1986.

WOOD, R. S. & JELLIS, G. D. apud SWAIN, T. The evolution of flavonoids. In: CODY, V.; MIDDLETON Jr.; E.; HARBORNE J. B. eds. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York, Alan R. Liss, p. 1-14, 1986.

WURM, G.; BAUMANN, J.; GERES, U. apud ALCARAZ, M. J. & HOULT, J. R. S. Effects of hypolaetin-8-glucosidase and related flavonoids on soybean lipoxygenase and snake venom phospholipase A₂. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 278:4-12, 1985.

YAMAMOTO, S.; YOSHIMOTO, T.; FURUKAWA, M.; HORIE, T.; WATANABEKOHNO, S. Arachidonate 5-lipoxygenase and its new inhibitors. *J. Allergy. Clin. Immunol.*, 74:349-52, 1984.

YOSHIZAWA, S.; HORIUCHI, T.; FUJIKI, H.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T.; SUGIMURA, T. Antitumor promoting activity of (-) epigallocatechin gallate, the main constituent of “tannin” in green tea. *Phytother. Res.*, 1:44-7, 1987.

YOSHIZAWA, S.; SUGUNUMA, M.; FUJIKI, H.; FUKAI, T.; NOMURA, T.; SUGIMURA, T. Morusin, isolated from root bark of Morus alba, L., inhibits tumor promotion of teleocidin. *Phytother. Res.*, 3:193-5, 1989.