

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**EFEITO DOS TERPENOS ÁCIDO CENTIPÉDICO E LACTONA DO ÁCIDO  
HAWTRIWAICO EM MODELOS DE DERMATITE DE CONTATO INDUZIDA POR  
TPA E OXAZOLONA EM CAMUNDONGOS**

**IANA BANTIM FELÍCIO CALOU**

**FORTALEZA-CE**

**2008**

**IANA BANTIM FELÍCIO CALOU**

**EFEITO DOS TERPENOS ÁCIDO CENTIPÉDICO E LACTONA DO ÁCIDO  
HAWTRIWAICO EM MODELOS DE DERMATITE DE CONTATO INDUZIDA POR  
TPA E OXAZOLONA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador (a):

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Flávia Almeida Santos

**FORTALEZA**

**2008**

**IANA BANTIM FELÍCIO CALOU**

**EFEITO DOS TERPENOS ÁCIDO CENTIPÉDICO E LACTONA DO ÁCIDO  
HAWTRIWAICO EM MODELOS DE DERMATITE DE CONTATO INDUZIDA POR  
TPA E OXAZOLONA EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao programa  
de Pós-Graduação em Farmacologia  
da Universidade Federal do Ceará  
como requisito parcial para obtenção  
do título de Mestre em Farmacologia.

**Data da aprovação: 14 / 02 / 2008**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Profa. Dra. Flávia Almeida Santos (Orientadora)**

**Universidade Federal do Ceará-UFC**

---

**Profa. Dra. Ana Maria Sampaio Assreuy**

**Universidade Estadual do Ceará-UECE**

---

**Profa. Dra. Gerly Anne de Castro Brito**

**Universidade Federal do Ceará-UFC**

“Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria aceso o sentimento de amar  
a vida dos seres humanos.

A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo a fora.  
Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem.

A capacidade de escolher novos rumos.

Deixaria pra você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável:

Além do pão, o trabalho.

Além do trabalho, a ação.

E quando tudo mais faltasse, um segredo:

O de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída.”

Gahndi.

Dedico este trabalho à minha família,  
fonte de amor e sabedoria e BEM maior  
que Deus me deu.

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dr<sup>a</sup>. Flávia Almeida Santos pela orientação, companheirismo, paciência e amizade que me dedicou, imprescindíveis para a realização deste trabalho. Professora, à senhora, minha eterna gratidão.

Ao Prof. Dr. Vietla Satyanarayana Rao pela colaboração.

Ao Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira pelo fornecimento do ácido centipédico e da lactona do ácido hawtriwaico.

À Profa. Dra. Gerly Anne de Castro Brito pela ajuda no estudo histopatológico e pela presteza com que sempre me atendeu.

A todos os inesquecíveis professores do Programa de Pós-graduação em Farmacologia, pela inspiradora sabedoria.

Aos amigos e companheiros de longa data Danilo, Tiago e Alana pelo auxílio nos trabalhos e, principalmente pelos momentos maravilhosos que passamos juntos.

Aos novos amigos, mestrandos, Otacílio, Ana Carla e Deive, pessoas queridas que sempre guardarei no coração.

As Doutorandas Marjorie Moreira Guedes, Silvéria Regina, Caroline Mourão pelos conselhos sábios e amizade sincera.

Aos queridos bolsistas de iniciação científica Tiago, Daniel, Saulo, Rhandell, Patrícia, Sâmia e Rafaela, pela preciosa ajuda e por trazerem alegria ao laboratório, tornando os dias de trabalho árduo mais leves.

Aos meus pais, Francisco Érico Gonçalves e Maria Elizabeth Bantim, por terem dado o apoio e incentivo necessário para a realização dos meus sonhos.

À Érica e Irma, minhas “irmãs – princesas”, por terem me ensinado o sentido da palavra amor.

À minha irmã Anny que sempre esteve, de alguma forma, ao meu lado, me fazendo rir e tornando os meus dias mais divertidos.

Às minhas amigas Jamile, Rafaela, Juliana e Débora, pelo companheirismo e infindáveis noites de conversas que passamos juntas.

À técnica do Laboratório de Produtos Naturais, Antônia Daniela, pela contribuição nos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Aura, Chiquinho, Edmílson, Fernando, Íris, Joana e Mônica pela boa vontade e prontidão ao me ajudar.

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## RESUMO

**EFEITO DOS TERPENOS ÁCIDO CENTIPÉDICO E LACTONA DO ÁCIDO HAWTRIWAICO EM MODELOS DE DERMATITE DE CONTATO INDUZIDA POR TPA E OXAZOLONA EM CAMUNDONGOS.** Dissertação submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia do Programa de Pós Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil. Iana Bantim Felício Calou; Orientadora: Profa. Dra. Flávia Almeida Santos.

Os terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtiwaico (LAH), isolados dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less, popularmente conhecida como macela ou macela da terra, foram avaliados em modelos de dermatite de contato irritativa induzida pelo 13-acetato-12-o-tetradecanoil-forbol (TPA) e de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona (OXA) em camundongos. O ácido centipédico e a LAH, por via tópica (0,125; 0,25 e 0,5mg/orelha), reduziram significativamente o edema de orelha induzido por TPA (2,5µg/orelha) em 45,5; 55,5; 61,1% e 33,3; 42,2 e 63,3%, respectivamente. Quando administrados por via oral, (12,5; 25 e 50mg/kg), reduziram o edema em 46,6; 59,3; 67,9% e 58,7; 59,7; 71%, respectivamente quando comparado ao controle veículo. A dexametasona na dose tópica de 0,05mg/orelha e na dose oral de 1mg/kg reduziu o edema de orelha em 90 e 73,1%, respectivamente. O ácido centipédico e a LAH, na dose de 0,5mg/orelha, via tópica reduziu de a atividade da mieloperoxidase (MPO) em 90,1 e 94,6%, respectivamente, enquanto a dexametasona (0,05mg/orelha) reduziu em 96,2% a atividade da MPO quando comparado ao controle veículo. Os terpenos na dose tópica de 0,5mg/orelha foram capazes de reduzir os níveis teciduais de TNF- $\alpha$ , o mesmo sendo observado com a dexametasona. A ação antiinflamatória dos terpenos no modelo da dermatite pelo TPA foram confirmados pelos achados histológicos. O modelo de dermatite de contato induzida por oxazolona (OXA, 1%/orelha), provocou uma hiperplasia epidérmica onde o INF- $\gamma$  teve papel crucial. Os terpenos ácido centipédico (0,25 e 0,5) e a LAH (0,5mg/orelha), por via tópica, diminuíram, a hiperplasia epidérmica induzida por oxazolona (1%/orelha) em todos os períodos de observação (4° - 19° dia). O ácido centipédico e a LAH na dose de



0,5mg/orelha diminuíram significativamente os níveis teciduais de INF- $\gamma$  (92,2 e 99,4%, respectivamente) quando comparados ao controle veículo. Quando administrado por via oral, o ácido centipédico (12,5; 25 e 50mg/kg) reduziu de forma significativa a hiperplasia epidérmica do 7° ao 19° dia de observação. A dexamentasona na dose tópica (0,05/mg) e na dose oral (1mg/kg) reduziu a hiperplasia epidérmica em 100 e 75%, respectivamente. Os resultados encontrados, comprovados pelo estudo histológico, demonstram o efeito antiinflamatório desses terpenos em modelo de dermatite de contato alérgica crônica onde a hiperplasia epidérmica e o aumento nos níveis teciduais de INF- $\gamma$  são características importantes, como no caso da psoríase.

**Palavras- Chave:** *Egletes viscosa*, ácido centipédico, lactona do ácido hawtriwaico, terpeno, dermatite, atividade antiinflamatória.

## ABSTRACT

**THE EFFECTS OF TERPENS CENTIPEDIC ACID AND LACTONE OF HAWTRIWAIC ACID ON TPA AND OXAZOLONE INDUCED CONTACT DERMATITIS IN MICE.** Dissertation undergoing as a requirement to obtain the Master's Degree in Pharmacology from the Pos-graduation Program in Pharmacology of the Department of Physiology and Pharmacology, Medical School, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil. Iana Bantim Felício Calou; Teacher: Dra. Flávia Almeida Santos

The terpenes centipedic acid (CA) and lactone of hawtriwaic acid (LAH) isolated from the flowers of *Egletes viscosa* Less, popularly known as *macela* or *macela da terra*, were evaluated on 13-acetate-12-o-tetradecanoil-forbol (TPA) induced irritative contact dermatitis model and on oxazolone induced allergic contact dermatitis in mice. The centipedic acid and LAH on the following dosage of 0,125; 0,25 and 0,5 mg/ear using the skin surface as a via reduced in a significant way the ear oedema induced by application of TPA (2,5 µg/ear). The values of reduction are the following respectively: 45,5; 55,1; 61,1% and 33,3; 42,2 and 63,3%. When the oral administration was used the doses of 12,5; 25 and 50 mg/kg had showed a significant oedema reduction of 46,6; 59,3; 67,9% and 58,7; 59,7; 71%, respectively. Dexametasone through skin surface administration on dosage of 0,05 mg/ear and oral dosage of 1mg/kg have reduced in a significant way the ear oedema in 90 and 73,1%, respectively. The centipedic acid and LAH using the dosage of 0,05 mg/ear through the skin surface had reduced the mieloperoxidase activity in 90,1 and 94,6%, respectively, while dexametasone (0,05 mg/ear) had reduced in 96,2% when compared to the group treated only with the vehicle. The terpenes on the topic dosage of 0,05 mg/ear were capable to reduce the tecidual levels of TNF- $\alpha$  as well as dexametasone. The antiinflammatory action of the terpenes on TPA induced dermatitis model was confirmed through histological analysis of the tissue. The oxazolone induced contact dermatitis model (OXA 1%/ear) had promoted an epidermic hyperplasia in which INF- $\gamma$  have a central role. The products under evaluation centipedic acid (0,25 and 0,5 mg/ear) and LAH (0,5 mg/ear) through skin surface reduced in a significant way the epidermic hyperplasia Throughout the

observation period (4<sup>o</sup>- 19<sup>o</sup> day). Centipedic acid and LAH on the following dosage 0,5/mg reduced in a significative way the tecidual levels of INF- $\gamma$  (92,2 and 99,4%, respectively) after 19 days of treatment. When using oral administration the centipedic acid (12,5; 25 e 50 mg/kg) reduced the epidermic hyperplasia from seventh through tenth ninth day. Dexametasone through skin surface administration on dosage of 0,05 mg/ear and oral dosage of 1mg/kg have reduced the epidermic hyperplasia in 100 and 75%, respectively The data that were found plus the histological analysis have showed the antiinflammatory effect, mainly through topic administration, of these terpens on allergic contact dermatitis models in which epidermic hyperplasia and increased tecidual levels of INF- $\gamma$  are important features, such as psoriasis.

**Key-words:** Egletes viscosa, centipedic acid, lactone of hawtriwaic acid, terpens, dermatitis, anti-inflammatory activity.

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1 -	Mecanismo fisiopatológico da dermatite de contato alérgica.....	34
Figura 2 -	Molécula fundamental do isopreno.....	42
Figura 3 -	<i>Egletes viscosa</i> Less.....	46
Figura 4 -	<i>Egletes viscosa</i> : quimiotipos A e B.....	48
Figura 5 -	Estrutura química do Ácido centipédico.....	56
Figura 6 -	Método de obtenção do ácido centipédico.....	57
Figura 7 -	Estrutura química da lactona do ácido hawtriwaico.....	58
Figura 8 -	Método de obtenção da lactona do ácido hawtriwaico.....	59
Figura 9 -	Efeito dos terpenos administrados por via tópica no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.....	67
Figura 10 -	Efeito dos terpenos administrados por via tópica na atividade de mieloperoxidase induzidos por TPA em camundongos.....	69
Figura 11 -	Efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico administrada por via tópica nos níveis teciduais de TNF- $\alpha$ induzidos por TPA em camundongos.....	71
Figura 12 -	Análise histológica de orelhas de camundongos submetidos à indução de DCI por TPA.....	73
Figura 13 -	Efeito dos terpenos administrados por via oral no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.....	75
Figura 14 -	Efeito dos terpenos administrados por via oral na atividade da mieloperoxidase induzidos por TPA em camundongos.....	77
Figura 15 -	Efeito do ácido centipédico e dexametasona administrados por via tópica sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.....	79
Figura 16 -	Efeito da lactona do ácido hawtriwaico e dexametasona administrados por via tópica sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.....	80
Figura 17 -	Efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, administrados por via tópica, nos níveis teciduais de IFN- $\gamma$ induzidos por oxazolona em camundongos.....	82

Figura 18 -	Análise histológica de orelhas de camundongos submetidos à indução de DCA por oxazolona.....	84
Figura 19 -	Efeito do ácido centipédico e dexametasona administrados por via oral sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.....	86

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> - Classificação dos terpenóides .....	43

## LISTA DE SIGLAS

±	mais ou menos
%	Porcentagem
®	Marca registrada
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μL	Microlitro
μg	Micrograma
μμ	Micrometro
AC	Ácido centipédico
ANOVA	Análise de variância
cm	Centímetro
COX-2	Ciclooxigenase 2
DEXA	Dexametasona
EHAM	Extrato hidroalcoólico da macela
E.P.M.	Erro padrão da média
et al.	...e colaboradores
EROs	Espécies reativas de oxigênio
EUA	Estados Unidos da América
ex	exemplo
g	gramas
GM-CSF	Fator estimulante de colônia de granulócitos e macrófagos
ICAM	Molécula de adesão intracelular
IL	Interleucina
INF	Interferon
IP-10	Proteína induzível
Kg	Kilograma
mg	Miligrama
MIP-2	Proteína inflamatória do macrófago-2
min.	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimol
nm	Nanômetro
°C	Grau centígrado
OXA	Oxazolona
p	Nível de significância
P.A.	Para análise
PDE-4	Fosfodiesterase tipo 4
pH	Potencial de hidrogênio
PKC	Protéina quinase C

TGF	Fator de transformação do crescimento
TPA	13-acetato de 12-o-tetradecanoil-forbol
TNF	Fator de necrose tumoral
UFC	Universidade Federal do Ceará
v.o	Via oral
vs	Versus



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	20
1.1. Plantas medicinais .....	20
1.2. Doenças dermatológicas .....	22
1.2.1 Resposta imunológica da pele .....	24
1.2.2 Dermatites .....	30
1.2.3 Dermatite de contato .....	30
1.2.3.1 Dermatite de contato irritativa .....	31
1.2.3.2 Dermatite de contato alérgica .....	33
1.2.4 Tratamento .....	36
1.3 Modelos animais de dermatite .....	39
1.3.1 Dermatite de contato irritativa por TPA .....	40
1.3.2 Dermatite de contato alérgica por oxazolona .....	40
1.4 Terpenos derivados de plantas .....	41
1.4.1 Diterpenos .....	44
1.5 <i>Egletes viscosa</i> Less.....	45
1.5.1 Botânica .....	45
1.5.2 Estudos químico-farmacológicos .....	47
1.5.3 Ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico .....	49
<b>2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b> .....	50
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	52
3.1. Objetivo geral .....	52
3.2. Objetivos específicos .....	52
<b>4. MATERIAIS</b> .....	53
4.1. Material botânico .....	53
4.2. Animais experimentais .....	53
4.3. Drogas e reagentes .....	54
4.4. Equipamentos .....	55
<b>5. MÉTODOS</b> .....	56

5.1. Obtenção do ácido centipédico .....	56
5.2. Obtenção da lactona do ácido hawtriwaico .....	58
5.3. Toxicidade aguda e efeitos comportamentais do ácido centipédico.....	60
5.4. Dermatite de contato Irritativa Induzida por TPA .....	60
5.5. Determinação dos níveis teciduais de mieloperoxidase.....	61
5.6. Determinação dos níveis teciduais de TNF- $\alpha$ .....	61
5.7. Dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona .....	62
5.8. Determinação dos níveis teciduais de INF- $\gamma$ .....	63
5.9. Avaliação histopatológica .....	63
5.10. Análise estatística .....	64
<b>6. RESULTADOS .....</b>	<b>65</b>
6.1. Obtenção do ácido centipédico .....	65
6.2. Obtenção da lactona do ácido hawtriwaico .....	65
6.3. Toxicidade aguda e efeitos comportamentais do ácido centipédico.....	65
6.4. Atividade dos terpenos aplicados topicamente no modelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camunongos .....	65
6.4.1. Edema de orelha induzido por TPA.....	65
6.4.2 Atividade de mieloperoxidase .....	68
6.4.3 Níveis teciduais de TNF- $\alpha$ .....	70
6.4.4 Análise histológica .....	72
6.5 Efeito dos terpenos administrados por via oral o modelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camundongos.....	74
6.5.1 Edema de orelha induzido por TPA .....	74
6.5.2. Atividade de mieloperoxidase .....	76
6.6 Atividade dos terpenos aplicados topicamente no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona.....	78
6.6.1 Hiperplasia epidérmica induzida por oxazolona .....	78
6.6.2 Níveis teciduais de INF- $\gamma$ .....	81
6.6.3 Análise histológica .....	81
6.7. Atividade do ácido centipédico administrado por via oral no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona .....	85

<b>7.DISSCUSSÃO .....</b>	<b>87</b>
<b>8. CONCLUSÕES .....</b>	<b>96</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>97</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>132</b>

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Plantas Medicinais

O uso de produtos naturais com propriedades terapêuticas é tão antigo quanto à civilização humana e, há muito tempo, produtos minerais, animais e principalmente vegetais têm sido fontes medicinais (DE PASQUALE, 1984; RATES, 2001; CALIXTO, 2005). As observações populares contribuíram de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas de vegetais, que embora não sejam conhecidos seus constituintes químicos, são prescritos com frequência, pelos efeitos que produzem. Dessa forma, os usuários de plantas medicinais mantêm a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas as informações terapêuticas acumuladas durante séculos (MACIEL, 1997).

A partir do século XIX a humanidade se depara diante do diverso e inesgotável arsenal terapêutico, presente nas plantas medicinais. A descoberta de substâncias ativas, que em estado natural ou após sofrerem processos de transformação química, possuem atividade farmacológica, muitas vezes já confirmada pelo uso popular e comprovada cientificamente, gera interesses institucionais e governamentais (MIGUEL; MIGUEL, 2000).

Preparações baseadas na utilização de plantas medicinais sob as formas de chás, decoctos, infusões e extratos são usadas na medicina popular, principalmente em países em desenvolvimento (DI STASI et al., 1994). De acordo com a organização mundial de saúde (OMS), cerca de 65-80% da população desses países, devido à pobreza e ao difícil acesso à medicina moderna, depende essencialmente das plantas medicinais para seus cuidados primários com a saúde (CALIXTO, 2005). A flora brasileira tem sido fonte terapêutica para o tratamento de diversas patologias, tais como inflamações, diarreia, dores em geral, distúrbios hepáticos, diabetes e alterações nos níveis de colesterol (VAN DEN BERG, 1993; GOTTLIEB; MORS, 1978).

Os países da América Latina possuem a maior biodiversidade do planeta. Somente o Brasil possui cerca de 20-22% de todas as plantas e microorganismos

que existem no mundo (CALIXTO, 2005). No entanto, esses países nunca usaram de forma apropriada sua enorme biodiversidade em benefício do seu próprio desenvolvimento (CALIXTO, 2005) e o potencial dos produtos de origem natural como fonte de novas drogas continua largamente inexplorado o que resulta na investigação fitoquímica e biológica de somente uma pequena fração de plantas, animais e microorganismos (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991).

Companhias farmacêuticas têm evidenciado que para algumas doenças complexas, os produtos naturais continuam sendo uma fonte valiosa para a síntese de novos compostos químicos por apresentarem estruturas privilegiadas selecionadas pela evolução ao longo de milhares de anos (BOLDI et al., 2004; CLARDY et al., 2004; KOCHIN et al., 2005; NEWMAN et al., 2003).

Das 520 drogas aprovadas entre 1983 e 1994, 39% eram produtos naturais ou derivados destes, e 60-80% dos antibacterianos e drogas anticâncer eram derivados de produtos naturais (CRAGG et al., 1997; YUE – ZHONG SHU, 1998). Atualmente cerca de 25-30% de todas as drogas terapêuticas disponíveis no mercado são derivados de produtos naturais (CALIXTO, 2005).

Nos últimos anos o interesse em plantas medicinais para terapia de distúrbios dermatológicos tem crescido bastante (DATTNER, 2004; MEYER et al., 2005). Os extratos de plantas têm sido utilizados em aplicações tópicas como terapia antienvhecimento, para o tratamento de feridas e de outras doenças da pele (PAJONK et al., 2006). Como exemplos dessas plantas podemos citar a soja (*Glycine max*) (IZUMI et al., 2007), o chá verde (*Camellia sinensis*) (HSU, 2005; PAJONK et al., 2006), o mamão (*Carica papaya*) (HEWITT et al., 2000; STARLEY et al., 1999) e a babosa (*Aloe vera*) (RICHARDSON et al., 2005).

Entre as plantas usadas popularmente ou mesmo prescritas pela medicina alopática para o tratamento de dermatites podemos citar a calêndula (*Calendula officinalis*), que possui na sua composição triterpenos pentacíclicos, flavanóides e saponinas (WICHTL, 1994); a camomila (*Matricaria chamomilla*), cujo mecanismo de ação possivelmente se deve a inibição tanto da cicloxigenase quanto da lipoxigenase comprovadas *in vitro* (AMMON; KAUL, 1992; HEILMANN et al., 1993); a

hamamélis (*Hamamelis virginiana*) (TYLER, 1994), devido a sua ação adstringente, promovendo uma contração dos vasos sangüíneos, resultando em uma ação antiinflamatória local e por fim podemos citar o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), muito utilizado na medicina tradicional chinesa para o tratamento da dermatite atópica (SHEEHAN; ATHERTON, 1994; LACHMAN et al., 1996).

Embora o uso de plantas medicinais seja bastante difundido em nossa população e na população mundial, a Revolução Industrial e o desenvolvimento da Química Orgânica acabaram por levar a preferência por produtos sintéticos para tratamentos farmacológicos (DE PASQUALE, 1984; RATES, 2001).

A descoberta de novos fármacos ou de fármacos mais acessíveis pode determinar a melhoria da qualidade de vida em doenças crônicas ou na própria sobrevivência do paciente afetado. Socialmente, a descoberta de fontes naturais de compostos químicos usualmente importados e/ou o desenvolvimento de fitoterápicos de fabricação nacional, podem ter conseqüências econômicas significativas, além de possibilitar a autonomia de cada país no gerenciamento de suas políticas de saúde (ELIZABETSKI, 2001).

## **1.2. Doenças dermatológicas**

As doenças dermatológicas representam aproximadamente 7% das consultas na prática médica. A maioria dos distúrbios da pele possui base inflamatória e alérgica. Dentre as doenças mais conhecidas da especialidade estão as dermatites de contato e a psoríase (PETERSEN, 2006).

Estudos apontam que os problemas dermatológicos são muito freqüentes. Um inquérito de prevalência de base populacional realizado na França estimou em 86,8% a proporção da população que refere ter sofrido alguma lesão dermatológica desde o nascimento e a sua prevalência no curso da vida, e em 43,2% a proporção dos que referia problema dermatológico nos últimos 24 meses, o que sem dúvida indica que as questões dermatológicas são extremamente freqüentes quando comparadas a outros problemas de saúde (WOLKENSTEIN et al., 2003). Um estudo realizado na Suécia também mostrou a enorme freqüência das doenças de pele,

revelando prevalência de 20,5%, sendo 23,3% entre as mulheres e 17,5% entre os homens (BINGEFORS et al., 2002).

Estimou-se que em 2004 nos EUA, o gasto com doenças dermatológicas foi de 39,3 bilhões de dólares, sendo 29,1 bilhões de custo médico direto e 10,2 bilhões de custo relativo à perda de produtividade (BICKERS et al., 2006).

Dados recentes apontam que as doenças dermatológicas estão em segundo lugar na frequência de doenças ocupacionais com 29% dos casos perdendo apenas para os distúrbios envolvendo o sistema musculoesquelético, que representa 57% dos casos (CHERRY et al., 2000). No Brasil, as doenças dermatológicas são a causa mais comum de acidentes profissionais (ALI, 1997).

A Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) promoveu um estudo inédito no país - o Censo Dermatológico da SBD (2006), que apontou a acne, as micoses superficiais, os transtornos de pigmentação, a ceratose actínica e as dermatites de contato como sendo as doenças mais prevalentes da especialidade.

A atenção aos problemas dermatológicos representam custo significativo para os sistemas de saúde de países subdesenvolvidos, nos quais se estima que 10% de todas as consultas sejam por doenças de pele (MAHE et al., 2003).

No entanto, existe uma tendência à não-valorização de tais agravos devido a sua baixa letalidade e subestimação da morbidade enquanto problema de saúde. Vários estudos mostram que as doenças dermatológicas têm significativo impacto na qualidade de vida dos atingidos, sobretudo dos cronicamente doentes (BINGEFORS et al., 2002; CHATURVEDI et al., 2005; DALGARD et al., 2004), ressaltando a necessidade de sua valorização como problema de saúde pelos responsáveis pela formulação de políticas públicas, uma vez que são de fato valorizados pelos pacientes atingidos.

### 1.2.1 Resposta imunológica da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano e sua principal função é a de barreira física. Durante a evolução, a pele desenvolveu uma imunidade específica que é conhecida como sistema imune da pele (SIS – do inglês “Skin Immune System”). Um grande número de fenômenos imunológicos exemplifica a importância da pele como órgão imune periférico, sendo ela capaz de diferenciar o “próprio do não próprio” o que é uma atividade muito relevante e difícil se considerar a infinidade de substâncias exógenas as quais ela está continuamente em contato (BOS, 1997).

A pele é a primeira barreira entre o corpo e o meio ambiente. As agressões aos quais ela está susceptível incluem desordens causadas por agentes químicos, microbiológicos e térmicos, além de radiação eletromagnética e traumas mecânicos. Os insultos decorrentes da inflamação cutânea (imunidade inata) e o recrutamento de células T de memória que sofrem expansão clonal em resposta ao encontro com antígenos (imunidade adquirida), são essenciais para o sucesso do sistema imune cutâneo (ROBERT; KUPPER, 1999).

Uma variedade de condições patológicas sistêmicas também pode refletir na pele, dentre elas a diabetes melitus (RAMSEY et al., 1999), aterosclerose (ALIEV; BURNSTOCK, 1998; GARASIC; CREAGER, 2001), doenças inflamatórias intestinais (GREENSTEIN et al., 1976), AIDS (COOPMAN et al., 1993), estresse mental (PICARDI; ABENI, 2001) e idade (RICHEY et al., 1988), o que mostra que a pele também tem função de indicador de desordens endógenas (PORTUGAL et al., 2007).

A função imunológica da pele se dá pela interação de múltiplas células como os macrófagos, células de Langerhans, queratinócitos, mastócitos, monócitos, células dendríticas, células endoteliais, uma densa rede de veias linfáticas aferentes (SIMON, 1994) e linfócitos T (STREILEIN, 1983). A função coordenada de todos estes elementos da derme e epiderme é capaz de responder rápida e efetivamente à grande variedade de insultos que ocorre na superfície do organismo (BOS; KAPSENBERG, 1993).



Os queratinócitos representam cerca de 95% das células epiteliais. Embora a função primária dessas células seja fornecer uma integridade funcional e proteção à epiderme, nas últimas duas décadas se esclareceu o seu importante papel na iniciação e perpetuação das reações inflamatórias e imunológicas da pele (MCKENZIE; SAUDER, 1990 ).

Os queratinócitos são a primeira linha de defesa do SIS assim como a maior fonte de citocinas da epiderme. Entre as citocinas produzidas podemos citar: IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-7, IL-8, GM-CSF e TNF- $\alpha$ , assim como várias prostaglandinas e leucotrienos (FURSTENBERGER, 1990; MATSUE et al., 1992; RUZICKA, 1989). Estas citocinas possibilitam a comunicação entre as células e permite que os fibroblastos e células endoteliais participem da resposta imune e inflamatória (WILLIAM; KUPPER, 1996).

Enquanto os queratinócitos produzem algumas citocinas constitutivamente, uma variedade de estímulos externos, como promotores de tumores, luz ultravioleta e agentes químicos podem induzir os queratinócitos da epiderme a liberar citocinas pró-inflamatórias (IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6), citocinas quimiotáticas (IL-8, IP-10), citocinas promotoras de crescimento (IL-2, IL-6, IL-7, IL-15, GM-CSF, TGF- $\alpha$ ), citocinas que regulam a resposta humoral versus a resposta celular (IL-10, IL-12, IL-18) e citocinas antiinflamatórias (IL-1 $\beta$ , IL-10) (MCKENZIE; SAUDER, 1990; DINARELLO, 1997; LUSTER et al., 1999; MURPHY et al., 2000).

De todas as citocinas produzidas pelos queratinócitos, somente a IL-1 e o TNF- $\alpha$ , chamadas citocinas primárias, ativam um número suficiente de mecanismos efetores para diferentes alvos da inflamação cutânea (KUPPER, 1990), entre eles a produção celular de espécies reativas de oxigênio (EROs) (ADAMSON; BILLINGS, 1992; LO et al., 1998).

Após o contato com a pele, o irritante atravessa a barreira exercida pelo estrato córneo (FARTASCH, 1997; JIANG et al., 2003; RIBAUD et al., 1994) e provoca uma ação tóxica direta nos queratinócitos (WILLIS et al., 1989, ASTNER et al., 2005). Em resposta a essas mudanças a IL-1 $\alpha$  pré-formada é liberada pelo estrato córneo e queratinócitos como o primeiro passo na cascata inflamatória. A IL-1 $\alpha$  estimula outros queratinócitos e fibroblastos a produzir e liberar mais IL-1 $\alpha$  e

outras citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$  (STEINHOFF; LUGER, 2004; LISBY; BAADSGAARD, 2001; CORSINI; GALLI, 2000; WELSS et al., 2004; BOXMAN et al., 1996). A ação direta do irritante sobre os queratinócitos também leva a um aumento nos níveis de ICAM-1 (GRIFFITHS et al., 1990).

A IL-1, juntamente com outras citocinas, como o IFN- $\gamma$ , estimula a proliferação dos queratinócitos (KUPPER; GROVE, 1995). O IFN- $\gamma$  tem sido citado como crucial para o desenvolvimento da hiperplasia dos queratinócitos em modelos animais de dermatite (SPERGEL et al., 1999).

O TNF- $\alpha$  por sua vez, é armazenado nos mastócitos da derme (GORDON; GALLI, 1990) no entanto, na ocorrência de algum estímulo, pode ser produzido pelos queratinócitos (KOCK et al., 1990) e células de Langerhans (LARRICK et al., 1989).

Várias evidências sugerem que o TNF- $\alpha$  é funcionalmente relevante para uma variedade de doenças da pele tanto em humanos quanto em roedores (WAKEFIELD et al., 1991; GROVES et al., 1995). Anticorpos contra o TNF- $\alpha$  são capazes de abolir muitas reações inflamatórias na pele, incluindo as dermatites de contato, tanto do tipo irritativa quanto do tipo alérgica (PIGUET et al., 1991).

As ações das citocinas primárias são decorrentes da ligação das mesmas aos seus receptores. Essa ligação leva a ativação de várias vias de sinalização incluindo a via do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), óxido nítrico (NO) e proteína quinase (PORTUGAL et al., 2007).

Na pele, o NF- $\kappa$ B regula a expressão de vários genes envolvidos na iniciação da resposta inflamatória, incluindo moléculas de adesão, quimiocinas e citocinas, óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e enzimas que regulam a produção de prostaglandinas (BELL et al., 2003). Tem sido sugerido que ativação do NF- $\kappa$ B pelos EROs representa o evento inicial na reação inflamatória (PORTUGAL et al., 2007). O NF- $\kappa$ B tem controle sobre a produção e viabilidade dos queratinócitos (SEITZ et al., 1998; SEITZ et al., 2000) e sua ativação, em modelos experimentais, leva à dermatite severa (BEG et al., 1995; KLEMENT et al., 1996).

O NO possui um papel central tanto como componente vasodilatador quanto como modulador das respostas imunes e inflamatórias da pele (BOGDAN, 1998; NATHAN, 1992). O NO atua em vários tipos de células incluindo queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans, fibroblastos e células endoteliais (BRUCH-GERHARZ et al., 1998). Estudos mostram e argumentam que a expressão de iNOS está associada com muitas doenças inflamatórias da pele (FUCHS et al., 2001) e que o INF- $\gamma$  induz a produção de NO nos queratinócitos tanto humanos quanto de ratos (HECK, 1992). Além dessas funções o NO possui uma função central na quimiotaxia dos neutrófilos na pele (FUCHS et al., 2001; TEIXEIRA et al., 1993).

Várias proteino-quinases aumentam a síntese de citocinas e de EROs (FUCHS et al., 2001). A proteino-quinase C (PKC), especificamente, regula várias vias de transdução associadas com a diferenciação, proliferação e inflamação, além de afetar a síntese de citocinas inflamatórias e radicais superóxidos (JACOBSON et al., 1995).

Juntamente com as citocinas primárias, as células da epiderme podem produzir citocinas secundárias, incluindo IL-6, IL-8 e GM-CSF através das citocinas primárias ou por outros estímulos, no entanto sua secreção, apesar de ser importante para a modulação da inflamação da pele, não é suficiente para induzir a resposta na ausência de outro estímulo (KUPER, 1990).

Como todas as citocinas, a IL-6 possui várias ações biológicas. Entre estas funções está a indução da proliferação dos queratinócitos, de maneira autócrina ou parácrina (GROSSMAN et al., 1989), possui importante papel nos linfócitos, é um co-fator para a proliferação de células e síntese de IL-2 e promove o desenvolvimento de células T citotóxicas (TOSATO; PIKE, 1988; VAN SNICK, 1990). Nas células B induz a diferenciação e aumento na produção de imunoglobulinas (VAN SNICK, 1990).

Níveis elevados de IL-6 estão presentes na fase efetora da dermatite de contato alérgica (KIMBER et al., 1990), assim como na epiderme de pacientes com psoríase (GROSSMAN et al., 1989; NEUNER et al., 1991). Não se sabe ao certo se ela é induzida por via direta ou indiretamente via TNF- $\alpha$  ou IL-1.

IL-8 é uma quimiocina pró-inflamatória, também presente na pele saudável (ANTTILA et al., 1992), que está envolvida na irritação da pele por atrair células polimorfonucleares e linfócitos para o local da inflamação (STEINHOFF; LUGER, 2004; WELSS et al., 2004). Esta citocina é capaz de induzir a degranulação e a liberação de enzima pelo neutrófilos, mas não está envolvida na geração de superóxidos. As fontes celulares de IL-8 incluem fagócitos mononucleares, fibroblastos e queratinócitos (LARSEN et al., 1989).

O acúmulo de neutrófilos é uma característica de várias doenças inflamatórias cutâneas (KATZ; STROBER, 1978). A presença de neutrófilos no local da lesão tem relação com a fisiopatologia do processo inflamatório através da fagocitose dos microorganismos invasores ou piorando o quadro inflamatório através da secreção de seu conteúdo tóxico (STENDAHL et al., 1978).

O GM-CSF é produzido pelas células endoteliais, por fagócitos mononucleares, fibroblastos e células T ativadas (CLARK; KAMEN, 1987; GROOPMAN et al., 1989) e está envolvido na diferenciação de macrófagos e neutrófilos. Como um potente inibidor da migração neutrofílica, este fator mantém os granulócitos no local da inflamação (AUSTEN et al., 1993). Na epiderme é capaz de estimular o crescimento dos queratinócitos (HANCOCK et al., 1988) e na derme pode afetar a função dos fibroblastos e células endoteliais estimulando o seu crescimento e migração (BUSSOLINO et al., 1989).

Além de todos os mediadores citados, a IL-18 está sendo atualmente descrita como citocina relevante na imunidade da pele. Ela promove o infiltrado de células Th1 nas lesões das dermatoses inflamatórias e amplifica a inflamação da pele, constituindo um candidato a alvo terapêutico (KANDA et al., 2007).

O contato da pele com irritantes também pode levar a destruição da barreira lipídica, que tem como principal causa a modificação no pH ácido da mesma, necessário para a defesa cutânea. Essas modificações no pH da pele possuem papel importante na patogênese de doenças como a dermatite de contato irritativa,

dermatite atópica, acne e infecções por *Candida albicans* (SCHMID-WENDTNER; KORTING, 2006).

A destruição da barreira lipídica da pele está associada com a perda de coesão entre os corneócitos e descamação da pele podendo levar a liberação de citocinas e promover uma resposta inflamatória (WOOD et al., 1992). Estas respostas induzem a proliferação de queratinócitos e a hiperqueratose passageira, o que leva a proteção cutânea a adquirir uma nova forma (PARISH, 1991). No entanto, o dano ocasionado pela remoção dos lipídios intracelulares também aumenta a perda de água pela pele o que estimula a síntese lipídica promovendo a restauração da barreira (GRUBAUER et al., 1989).

Os irritantes possuem a capacidade de aumentar o *turnover* da epiderme por mecanismos que ainda não foram totalmente esclarecidos. Três possíveis eventos podem estar envolvidos devido ao efeito direto do irritante nos queratinócitos, podendo causar uma reação de hiperproliferação: A produção de citocinas que induzem a hiperplasia epidérmica (IL-1, IFN- $\gamma$ ); a destruição da estrutura da membrana celular com envolvimento da adenilato ciclase (os danos nos queratinócitos reduzem a atividade da adenilato ciclase levando a uma diminuição do cAMP e aumento da divisão celular) e o envolvimento da ornitina descarboxilase, enzima intracelular que influencia a cinética de proliferação ( WILLIS et al., 1992; MARKS et al., 1979).

A hiperproliferação dos queratinócitos causa um aumento na espessura do estrato córneo, levando a um melhoramento da função de proteção da pele. Tais reações dos queratinócitos e do estrato córneo em resposta a exposição repetitiva a um irritante é descrita como *Fenômeno de endurecimento da pele* (MCOSKER; BEC, 1967; MOON et al., 2001; WULFHORST, 1996), e pode ser importante para determinar a susceptibilidade individual à irritação crônica (ROBINSON et al., 2003).

É importante lembrar que a pele é um órgão diretamente exposto às espécies reativas de oxigênio do ambiente, assim como de fontes endógenas, sendo um alvo para o estresse oxidativo (TROUBA et al., 2002; KOHEN; GATI, 2000). A pele está

cronicamente exposta às EROs e a produção exacerbada destes e de citocinas podem levar a sérias desordens dermatológicas (PORTUGAL et al., 2007).

O estresse oxidativo contribui para efeitos adversos na pele que se manifestam como edema, eritema, foto-envelhecimento, anomalias na queratinização, lesões pré-neoplásicas e câncer de pele (NACHBAR; KORTING, 1995).

### **1.2.2 Dermatites**

As dermatites são dermatoses inflamatórias mediadas por fatores imunológicos locais ou sistêmicos, embora as causas de muitas delas permaneçam desconhecidas. Em geral as lesões agudas permanecem por alguns dias a semanas e se caracterizam por inflamação, edema e, em algumas, lesão epidérmica, vascular ou subcutânea. Por outro lado, as lesões crônicas persistem por meses a anos e, com frequência, exibem componentes significativos de crescimento epidérmico alterado (atrofia ou hiperplasia) ou fibrose dérmica (MURPHY; MIHM JR., 2000).

Como exemplos das dermatoses mais comumente encontradas dentro da categoria aguda, temos a urticária, a dermatite eczematosa aguda (que inclui a dermatite de contato, a dermatite atópica, dermatite eczematosa relacionada a drogas, erupção fotoeczematosa e dermatite irritante primária) e o eritema multiforme e como exemplo de dermatoses crônicas, pode-se citar a psoríase, o líquen plano e o lúpus eritematoso (MURPHY; MIHM JR., 2000).

Pode-se dividir as dermatites em: dermatite de contato, dermatite seborréia, dermatite nummular e dermatite atópica (SAMPAIO, 2002). Os alvos deste trabalho de pesquisa são as dermatites de contato tanto irritativa quanto alérgica.

### **1.2.3 Dermatites de contato**

A dermatite de contato é uma desordem caracterizada por inflamação e prurido na pele (BÁNVÖLGYI et al., 2005) e causada por agentes externos que podem ser divididos em substâncias irritantes, que possuem uma ação tóxica direta

na pele (dermatite de contato irritativa, DCI), e compostos alergênicos que provocam uma reação de hipersensibilidade tipo tardia (dermatite de contato alérgica, DCA) (ENGLISH, 2004). É uma dermatose inflamatória freqüente nos países industrializados, com grande impacto socioeconômico, sendo uma das doenças ocupacionais mais comuns (SAINT-MEZARD et al., 2004; BELSITO, 2000).

A incidência anual das dermatites de contato ocupacionais (DCO), de acordo com os dermatologistas do projeto EPIDERM (Reino Unido), é de cerca de 1,3 casos em 10.000 trabalhadores (CHERRY et al., 2000). As indústrias de manufaturados contribuem para o maior número de casos encontrados seguidas das profissões da área de saúde. O impacto econômico das DCO é considerável. Aproximadamente 4 milhões de dias de trabalho são perdidos devido a abstenção causada pelas doenças de pele (ENGLISH, 2001), o que pode custar cerca 200 milhões de euros (ENGLISH, 2004). Além disso, as DCO produzem um impacto considerável na qualidade de vida das vítimas da doença (HUTCHINGS et al., 2001).

### **1.2.3.1 Dermatite de Contato Irritativa**

A dermatite de contato irritativa (DCI) é uma resposta da pele a uma variedade de estímulos externos que induzem inflamação sem, no entanto promover a produção de anticorpos específicos, mas as lesões produzem perda da integridade da pele e podem permitir absorção das proteínas e sensibilização posterior. Este tipo de dermatite apresenta as mesmas características morfológicas de outras dermatites, com menos vesículas e, mais infiltrado neutrofílico (SMITH et al., 2002).

O contexto de desenvolvimento da DCI depende de vários fatores que podem ser caracterizados como internos ou externos (LEVIN; MAIBACH, 2002).

Os fatores externos são as características da molécula causadora, o tempo de exposição, o efeito cumulativo com outro irritante e as condições ambientais (PROTTEY et al., 1972; AGNER; SERUP, 1989). Enquanto que as características internas dizem respeito à susceptibilidade individual dos pacientes, como raça (BERARDESCA; MAIBACH, 1988; WEIGAND et al., 1974; SUGINO et al., 1993),

idade (LEVEQUE et al., 1984), sexo (LAMMINTAUSTA et al., 1988a) e estória prévia de dermatite (LAMMINTAUSTA et al., 1988b).

A irritação aguda da pele resulta da exposição a um irritante forte ou a produtos químicos cáusticos como soluções ácidas e alcalinas (EICHMANN; AMGWERD, 1992). A sensação imediata do paciente após o contato é queimação e coceira e os sinais clínicos incluem eritema, edema e necrose (LEVIN; MAIBACH, 2002).

A causa mais comum de DCI é a exposição repetitiva da pele à água, detergentes, álcalis e a outros agentes químicos. Estudos mostram uma relação direta entre a frequência de lavagens das mãos e o surgimento de eczemas (FEINGOLD; ELIAS, 2000; ELIAS; FEINGOLD, 2001). Outra forma muito frequente, é a DCI por produtos cosméticos (NICKOLOFF, 1998; DOGRA et al., 2003). Um estudo realizado na Suécia, com 1075 participantes mostrou que 47% destes apresentaram reações adversas na pele, como a dermatite irritativa, à produtos cosméticos (LINDBERG et al., 2004).

Enquanto a dermatite de contato irritativa aguda ocorre após uma única exposição a um forte irritante, o contato repetitivo com um irritante médio pode causar uma dermatite crônica (MALTEN, 1981).

O mecanismo da DCI crônica é bem diferente. Uma reação subaguda com nenhuma irritação visível pode se desenvolver após uma exposição crônica a um irritante, reação esta normalmente cumulativa, sem eritema e que pode ser exarcebada pelo meio ambiente. O papel do estrato córneo é fundamental pois a patologia provoca um dano progressivo na função de barreira na pele (MALTEN, 1981). A forma crônica se caracteriza por aumentar o *turnover* da epiderme, que corresponde clinicamente a liquenificação (BERARDESCA; DISTANTE, 1994).

Ocorrem três mudanças patofisiológicas na DCI: a destruição da barreira da pele, as mudanças nas células epidérmicas e a liberação de mediadores, todos eles interligados (SMITH et al., 2002).



Entre os mediadores envolvidos da dermatite de contato irritativa pode-se citar o TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-1a, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IP-10, MIP-2 com predominância das células CD4<sup>+</sup> sobre as CD8<sup>+</sup> (LEVIN; MAIBACH, 2002).

### 1.2.3.2 Dermatite de contato alérgica

A dermatite de contato alérgica, também conhecida como hipersensibilidade de contato, é uma desordem da pele dependente de células T com a cinética de uma resposta de hipersensibilidade do tipo tardia (GRABBE; SCHWARZ, 1998).

Os antígenos sensibilizantes, também chamados de haptenos, são moléculas instáveis, de baixo peso molecular que não são imunogênicas *per si* tendo que se ligar a proteínas da epiderme do hospedeiro (SAINT-MEZARD et al., 2004). Os haptenos potentes induzem uma irritação cutânea dose-dependente que é independente de sua antigenicidade (GRABBE et al., 1996).

A fisiopatologia da DCA consiste em duas etapas distintas: A fase de sensibilização e a fase efetora. Na primeira fase o hapteno penetra o estrato córneo (SAINT-MEZARD et al., 2004), o que ativa a imunidade inata induzindo a produção de citocinas pelas células residentes da derme e epiderme ou ativa diretamente a via do NF- $\kappa$ B no endotélio (BARNES; KARIN, 1997). Em ambos os casos, as moléculas de adesão são expressas e as citocinas são sintetizadas, estes sinais favorecem a migração das células dendríticas que drenam os sensibilizantes modificados para os linfonodos e os apresentam as células T (ROBERT; KUPPER, 1999).

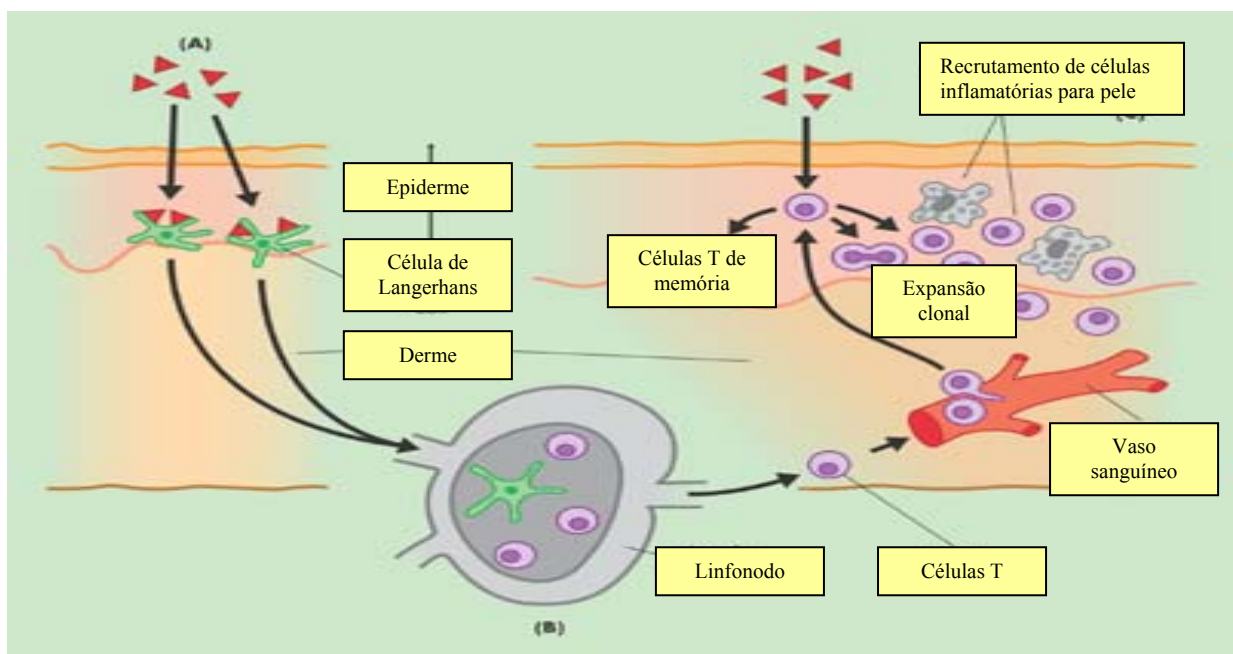
Alguns dias após a sensibilização, novas células T sofrem clonagem e adquirem antígenos linfocitários cutâneos (CLA) específicos e então se tornam células de memória que deixam os linfonodos para adentrar no sangue periférico (SANTAMARIA BABI et al., 1995; SAINT-MEZARD et al., 2004).

Exposições repetidas ao antígeno sensibilizante levam à fase efetora, onde o número de células T CLA de memória específicas no sangue periférico chegam até níveis necessários pra desencadear uma resposta alérgica da pele. Estas novas

células T CLA extravasam para o local da irritação, reconhecem o antígeno *in situ* e se tornam ativadas. As células T CD8<sup>+</sup> iniciam o processo inflamatório provocando apoptose dos queratinócitos e produção de citocinas, este quadro é responsável pelo recrutamento dos leucócitos, incluindo as células T CD4<sup>+</sup> reguladoras do sangue para a pele levando ao desenvolvimento de lesões cutâneas características da dermatite de contato alérgica (ROBERT; KUPPER, 1999; SAINT-MEZARD et al., 2004).

Encontros subseqüentes com o antígeno, mesmo que sejam meses após a sensibilização, irá novamente levar ao recrutamento das células T CLA para o sangue periférico, que agora incluem células T de memória específicas para aquele antígeno. O extravasamento das células T, seguido da ativação do receptor de antígeno e liberação de citocinas, leva a uma “lembrança” das características clínicas da DCA (**Figura 1**) (ROBERT; KUPPER, 1999).

São mediadores da DCA o TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , GM-CSF, IL-1a, IL-6, IP-10, MIP-2, IL-1b, IL-4. Como na DCI, ocorre predominância das células T CD4<sup>+</sup> sobre as TCD8<sup>+</sup> (LEVIN; MAIBACH, 2002).



**Figura 1.** Mecanismo fisiopatológico da dermatite de contato alérgica (disponível em: <<http://www.abpi.org.uk>>).

Muitas vezes a apresentação clínica da DCI é indistinguível da DCA o que torna o diagnóstico difícil e muitas vezes errôneo (ELIAS et al., 1998). A seguir, os principais aspectos clínicos que ajudam a diferenciar os tipos de dermatites em irritativa e alérgica.

**Dermatite de contato irritativa (DCI)** - Ressecamento da pele na área de contato e descamação com ou sem eritema. Pode evoluir com fissuras e sangramentos. É importante salientar que o processo irritativo irá depender do agente causal.

**Dermatite de contato alérgica (DCA)** - Presença de eritema, edema e vesiculação. Ao se cronificar, verifica-se a formação de crostas serosas podendo ocorrer infecção secundária e, às vezes, liquenificação.

O prurido é um sintoma comum às duas patologias (BURKHART; BURKHART, 2003; SAINT-MEZARD et al., 2004) e provoca um impacto negativo na qualidade de vida dos pacientes (LOVELL; VENDER, 2007). A histamina, a substância P e o fator de necrose tumoral possuem papel importante na percepção do prurido (WELDON, 2007).

Existe uma distinção muito útil na diferenciação das dermatites que é o período de recuperação. A recuperação na DCI é descrita como um fenômeno decrescente onde a irritação atinge rapidamente um pico e imediatamente após a retirada do contato com o irritante ocorre a melhora (WIGGER-ALBERTI; ELSNER, 2000), o que se opõe ao que ocorre na DCA que, depois de removido o alérgeno existe um aumento na reação alérgica antes da recuperação (LEVIN; MAIBACH, 2002).

Se o médico ainda tiver dúvidas no diagnóstico apenas com a observação do quadro clínico um teste de contato (patch test) pode ser realizado.

O mecanismo etiogênico dos testes de contato é o mesmo da dermatite alérgica de contato. Ao se aplicar um teste epicutâneo, objetiva-se induzir no paciente a segunda fase da dermatite alérgica de contato, ou seja, a via eferente da reação imunológica do tipo IV. Com isso, frente a um teste positivo, espera-se

encontrar, no local da aplicação do teste, uma reação eczematosa de intensidade variável de acordo com a resposta do indivíduo. É um teste útil na diferenciação dos tipos de dermatoses (DUARTE et al., 2000) e possui especificidade e sensibilidade entre 70 e 80% (NETHERCOTT, 1989).

#### **1.2.4 Tratamento**

A pele é um órgão ímpar no sentido de ser facilmente acessível para diagnóstico e tratamento de doenças. Para a maioria das afecções dermatológicas, o sucesso ou fracasso dos esquemas terapêuticos é rapidamente aparente tanto para o paciente quanto para o médico. Os medicamentos podem ser administrados para a pele de modo eficaz por via tópica, intralesional e sistêmica (GOODMAN, 2001).

Nas dermatites de contato a primeira providência a ser tomada, independente se alérgica, irritativa, aguda ou crônica, é abolir o contato do agente etiológico com a pele seguindo com o tratamento terapêutico (DUARTE et al., 2000; COHEN; HEIDARY, 2004).

A dermatite de contato irritativa é freqüentemente tratada com compressas frias, corticosteróides tópicos ou, mais recentemente, antibióticos macrolídeos. As compressas frias de solução de acetato de alumínio, nitrato de prata, salina ou água reduzem a vesiculação (LEVIN; MAIBACH, 2001).

Os antibióticos macrolídeos melhoram o quadro de dermatite por causar imunossupressão (DUMONT et al., 1990; SMITH, 2000); inibindo a imunoglobulina E (IgE) que medeia a liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios dos mastócitos, reduzindo assim o prurido (LEVIN; MAIBACH, 2002).

Os hidratantes ou cremes de barreira geralmente são usados em quadros subagudos (LODEN; LINDBERG, 1991; BLICHMANN et al., 1989), exercendo o seu efeito por atrair água, aumentando a hidratação da pele (LODEN, 1997). Os lipídios contidos nesses produtos agem como emulsificantes melhorando a função de

barreira da pele (KUNTZ; BRASSFIELD, 1971; ASHTON et al., 1971), além de prevenir a absorção de substâncias exógenas (GHADIALLY et al., 1992).

Nos casos crônicos, cremes hidratantes, como uréia 10%, cremes com silicone a 10% e outros ajudam na hidratação e proteção da pele (SITTART; PIRES, 1998). Corticóides tópicos na forma de cremes ou pomadas devem ser utilizados para o controle da dermatose. Corticóides sistêmicos são raramente empregados. Nos casos em que haja associação com dermatite atópica, os anti-histamínicos são necessários como paliativos devido as suas propriedades antipruriginosas e sedativas, dando preferência aos agentes clássicos como difenidramina, meclastina ou hidroxizina (FUNK; MAIBACH, 1994; SITTART; PIRES, 1998; SAMPAIO; RIVITTI, 1998).

A eficácia dos corticosteroides tópicos no tratamento da DCI permanece “sub judice”. Enquanto o seu efeito antiinflamatório contribui com a diminuição da inflamação e/ou da irritação, seu efeito anti-proliferativo impede a recuperação da barreira do estrato córneo (LEVIN; MAIBACH, 2000), mas a sua eficácia na DCA já foi exaustivamente comprovada (QUEILLE-ROUSSEL et al., 1990), constituindo o tratamento de escolha (LEUNG et al., 2004).

O uso oral e tópico destes agentes geralmente é bem tolerado quando por períodos curtos. O uso prolongado de esteróides tópicos pode resultar em atrofia cutânea, hirsutismo, acne, foliculite e absorção sistêmica (COHEN; HEIDARY, 2004).

A fototerapia tem sido usada, de forma limitada, a pacientes com DCA refratária que não respondem ao tratamento com corticóides orais e tópicos ou a pacientes que não podem evitar todos os agentes provocadores na sua rotina diária. A luz ultravioleta tem propriedades imunossupressoras intrínsecas e vários estudos mostram a eficácia do PUVA e dos raios UVB de ondas curtas no tratamento da DCA crônica e da DCI. As radiações melhoram o quadro de descamação, eritema, vesiculações, infiltrações e fissuras (COHEN; HEIDARY, 2004).

Desde a década passada os inibidores de calcineurina, um grupo de agentes imunossupressores, são investigados como opções de tratamento para as doenças inflamatórias da pele. Eles agem inibindo a proteína calcineurina, prevenindo então a desfosforilação do fator nuclear ativador de células T (NF-AT), resultando no bloqueio das vias de transdução nas células T, inibindo a produção de citocinas (BORNHÖVD et al., 2001). O tacrolimos e pimecrolimus possuem ação antiinflamatória tópica comprovada e eficácia comparada aos corticosteróides tópicos no tratamento dos sinais e sintomas das dermatites de contato (SARIPALLI et al., 2003; WOLLINA, 2007).

O uso de agentes biológicos, como os anticorpos anti-TNF- $\alpha$ , no tratamento das doenças de pele é promissor. Como O TNF-  $\alpha$  é uma citocina presente em vários tipos celulares da pele e participa da fisiopatologia das dermatites de contato, tanto a irritativa quanto a alérgica, estes agentes constituem uma opção terapêutica (PIGUET et al., 1991). Os agentes já conhecidos como o etanercept e o infliximab ainda não foram bem estudados nas dermatites de contato, mas já apresentaram efeitos consideráveis em outras doenças inflamatórias da pele como a psoríase (COHEN; HEIDARY, 2004).

A investigação de novas opções terapêuticas para as dermatites vai além dos já mencionados agentes imunossupressores e antiinflamatórios. Inovadores tratamentos têm sido usados no tratamento das dermatites de contato. A aplicação tópica de B-nicotinamida adenina dinucleotídio reduzida (NADH), mostra benefícios no tratamento dessas desordens devido ao seu forte poder antioxidante, protegendo a células e suas membranas da destruição pelos radicais livres (WOZNIACKA et al., 2003).

Mais recentemente, os inibidores da fosfodieterase (PDE-4) têm sido sugeridos como potentes agentes antiinflamatórios tópicos não esteroidais, úteis no tratamento das dermatites de contato. Estes agentes são capazes de inibir a produção de citocinas do tipo Th1 e Th2, explicando o seu efeito antiinflamatório (BÄUMER et al., 2007).

O micofenolato de mofetil, antes utilizado no tratamento da psoríase, recentemente se tornou uma potente opção de tratamento para as dermatites de contato. Este agente inibe a síntese de precursores da síntese de DNA e RNA nas células T e B. Os resultados experimentais positivos sugerem que a aplicação em humanos no futuro será possível (LIU; MACKOOL, 2003).

A identificação de novos agentes para o tratamento de inflamações da pele e outros tipos de inflamação representa um avanço terapêutico muito grande. O ideal seria que os novos compostos possuíssem a mesma ação antiinflamatória dos glicocorticóides sem, no entanto compartilhar seus efeitos adversos.

### **1.3 Modelos Animais de Dermatites**

Modelos animais que simulam as doenças dermatológicas humanas são necessários para permitir aos pesquisadores estudar e entender a eficácia das drogas com possíveis utilizações na clínica. Tais modelos possibilitam estudar sistemas mais complexos, como o sistema imune relacionado à pele. O modelo ideal de doenças deve incluir todas as características da doença que queremos estudar como os traços clínicos, imunológicos, celulares, moleculares e genéticos. Evidentemente que existem diferenças estruturais entre a pele do humano e a do animal o que faz quase impossível uma identificação perfeita (PETERSEN, 2006).

Para o estudo de drogas cujo mecanismo e ação ainda não foram elucidados, o modelo deve fornecer os marcadores da doença humana que se planeja tratar. Alguns modelos podem não ser úteis para a escolha de novas drogas, no entanto podem se apresentar como uma ótima ferramenta para a descoberta das vias de sinalização envolvidas nas doenças e para expandir os conhecimentos sobre os mecanismos envolvidos nas mesmas. A aplicação dos modelos de doenças dermatológicas depende da questão a ser respondida sobre o alvo biológico ou da droga que está sendo avaliada (PETERSEN, 2006).

Atualmente as terapias mais eficazes e mais utilizadas dentro da dermatologia são os corticosteróides e os inibidores da calcineurina. Ambas as classes incluem drogas potentes com atividade antiinflamatória e imunossupressora. Como a maioria

dos modelos de doenças dermatológicas possui base inflamatória ou imunológica, essas drogas atuam como compostos de referência, servindo como um controle interno de qualidade e reprodutibilidade do estudo além de permitir a comparação da eficácia de novas terapias (PETERSEN, 2006).

### **1.3.1 Dermatite de contato irritativa induzida por TPA**

Os ésteres de forbol, como o 13-acetato de 12-*o*-tetradecanoilforbol (TPA), são substâncias pró-inflamatórias e promotoras de tumores que ocorrem naturalmente em plantas da família Euforbiacea (EVANS; SOPER, 1978). Estes compostos induzem eritema na pele do camundongo após 1 hora da aplicação (EVANS; SCHMIDT, 1979), e numa fase mais tardia induzem edema (JANOFF et al., 1970) e , eventualmente, hiperplasia (RAICK et al., 1972).

O edema de orelha em camundongos induzido pelo TPA é largamente utilizado como modelo para testar a atividade antiinflamatória de drogas. Neste modelo o edema de pele é associado com um aumento na concentração de eicosanóides e leucotrienos (RAO et al., 1993; PUIGNERO; QUERALT, 1997), com ativação da proteína quinase C (PKC) (WANG et al., 2001), assim como da fosfolipase A<sub>2</sub> (KAST et al., 1993), indução da cicloxigenase (SCHOLZ et al., 1995; SANCHEZ; MORENO, 1999), formação de TNF- $\alpha$  e de infiltrado neutrofílicos (MURAKAWA et al., 2006) e translocação e ativação da lipooxigenase (WERZ et al., 2001).

Uma única aplicação de TPA na orelha de roedores provoca resposta similar a uma DCI, representando um bom modelo animal da doença (SHEU et al., 2002).

### **1.3.2 Dermatite de contato alérgica induzida por Oxazolona**

A oxazolona é um potente agente sensibilizante que produz pouca irritação (FINT et al., 2003). A hipersensibilidade induzida em camundongos produz hiperplasia tecidual e aumenta os níveis de leucotrienos e prostaglandinas (MEURER et al., 1988). A oxazolona é um potente indutor de cicloxigenase (COX-2),



IFN- $\gamma$  e IL-4 quando aplicada topicamente (WEE et al., 2005), além de induzir uma resposta de hipersensibilidade tardia, quando aplicada repetidamente na orelha dos animais, provocando edema, eritema e abrasão (TAMURA et al., 2004).

Por ser capaz de produzir uma inflamação crônica, dependente de linfócitos T do tipo 1 (Th1) na fase inicial e tipo 2 (Th2) numa fase que se segue à exposição continuada do agente (WEBB et al., 1998), e ser de fácil reprodutibilidade, a DCA induzida por oxazolona têm se mostrado modelo farmacologicamente útil na descoberta de novas drogas para terapia da psoríase (FUJII et al., 2002) e da hipersensibilidade de contato (ASHLEY et al., 2001), uma vez que reproduz os aspectos destas doenças humanas induzindo uma elevação nos níveis de IFN- $\gamma$  e uma pronunciável hiperplasia epidérmica (NICKOLOFF, 1991; BONISH et al., 2000).

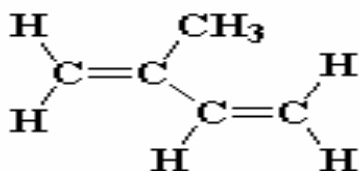
#### 1.4 Terpenos derivados de plantas

Uma das características dos seres vivos é a presença de atividade metabólica. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário (atividades metabólicas essenciais que envolvem aminoácidos, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos) e secundário (envolvendo compostos que não possuem distribuição universal e, portanto, não são necessários a todas as plantas como, por exemplo, alcalóides e flavonóides) (KAUFMAN et al., 1999).

Uma importante classe de metabólitos secundários é representada pelos terpenos, um grupo de compostos naturais com ampla distribuição, compreendendo mais de 1500 compostos, além de uma variedade estrutural envolvendo mais de 40 tipos de esqueletos básicos (NES; ZHOU, 2001).

Os compostos terpênicos possuem em comum o fato de serem constituídos por múltiplos da molécula fundamental do isopreno (2-metilbutadieno), (**Figura 2**). No entanto, distinção se faz entre os verdadeiros terpenos, ou seja, a denominação *stricto sensu* de terpenos se reserva para os hidrocarbonetos saturados (terminação eno), estes podendo ser considerados como polímeros por adição ou condensação de moléculas do isopreno. Isto implica, além de uma fórmula bruta inteira do

isopreno ( $C_5H_8$ ), uma estrutura ramificada que permita reconhecer as unidades integrantes da molécula (GIRAL, 1956).



**Figura 2** - Molécula fundamental do isopreno.

Além dos terpenos autênticos, existem os chamados terpenóides (**Tabela 1**). A química dos terpenóides inclui compostos como alguns hidrocarbonetos que possuem menor ou maior teor de hidrogênio do que os terpenos verdadeiros, conservando no entanto a estrutura das unidades isoprênicas. Outros terpenóides são compostos formados por outras funções químicas como os álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos terpênicos. Estes são derivados dos terpenos pela introdução do oxigênio na molécula terpênica. Todas estas substâncias podem ser agrupadas numa denominação mais genérica e vaga de compostos terpenóides. Os esqueletos carbonados dos terpenóides são formados pela condensação de um número variável de unidades de isopreno predominando a condensação cabeça-cauda (SIMÕES, 2001).

**Tabela 1:** Classificação dos terpenóides.

UNIDADES DE ISOPRENO	NÚMERO DE CARBONOS	CLASSIFICAÇÃO
1	5	Hemiterpeno
2	10	Monoterpeno
3	15	Sesquiterpeno
4	20	Diterpeno
5	25	Sesterterpeno
6	30	Triterpeno
8	40	Tetraterpeno
>8	>40	Politerpeno

Os terpenóides podem ser encontrados nas formas cíclica e linear. As formas cíclicas poderão compor um número imenso de formas de estereoisômeros, por outro lado, os terpenóides lineares apresentam isomerismo geométrico nas duplas ligações isoprênicas. Os compostos mais freqüentes nos óleos essenciais são os monoterpenos (cerca de 90 % dos óleos essenciais) e os sesquiterpenos. Outros terpenóides, como diterpenos, são encontrados apenas em óleos essenciais extraídos com solventes orgânicos. O número de compostos terpênicos conhecidos ultrapassa 8000, como componentes descritos em óleos essenciais é estimado um número superior a 150 monoterpenos e 1000 sesquiterpenos (SIMÕES, 2001).

Os compostos terpênicos apresentam importantes atividades farmacológicas, tais como, anti-tumoral (DA SILVA et al., 2007; CARNESECCHI et al., 2004), sedativa (DO VALE et al., 2002), analgésicas, antiinflamatórias (CARVALHO et al., 1996; IWAMOTO et al., 2001; AHMAD et al., 2005; KÜPELI, et al., 2003; KLEIN; NEWTON, 2007), ativadoras de proteína quinase A (RAJIC et al., 2000), cardioprotetoras (LIEBGOTT et al., 2000); bloqueadoras dos canais de cálcio (WANG et al., 2002) antioxidantes (ZHANG et al., 1996), hipolipidêmica (SILVA et al., 2001), relaxante da musculatura lisa vascular (TORRES et al., 2000), antimicrobiana (WALENCKA et al., 2007; MADUREIRA et al., 2003), antiulcerogênica

(HIRUMA-LIMA et al., 2002), gastroprotetora (GUEDES, 2002; OLIVEIRA et al., 2004a; YOSHIKAWA et al., 2007; IZQUIERDO et al., 2007), antinociceptiva (GUEDES, 2002; MAIA et al., 2006; LIMA-JÚNIOR, 2006; DO AMARAL et al., 2007), antipruritogênica (OLIVEIRA et al., 2004b) e hepatoprotetora (OLIVEIRA et al., 2005).

#### 1.4.1 Diterpenos

Os diterpenos constituem uma grande e diversificada classe de metabólitos secundários que podem ser considerados como resultados de fatores naturais. Possuem esqueleto básico com 20 átomos de carbono e derivam biogeneticamente do pirofosfato de geranyl geranila, que resulta do encadeamento cabeça-cauda de quatro unidades de isopreno (TORSSELL, 1983).

Estes compostos representam umas das poucas classes fundamentais de produtos naturais com aproximadamente 5000 membros conhecidos (NATURAL, 1995). Eles apresentam importância química e comercial por que o seu uso leva à pesquisa de novos produtos farmacêuticos (DZEROSKI et al., 1998).

Muitos estudos realizados com extratos de plantas contendo diterpenos, mostraram uma variedade de atividades farmacológicas, como atividade anti-ulcerogênica do *Trans*-Crotonina, diterpeno isolado do *Croton cajucara* Benth (HIRUMA-LIMA et al., 2002), atividade analgésica e gastroprotetora, do ácido centipédico e da lactona do ácido hawtriwaico, e antiedematogênica da última (MELO et al., 2006), diterpenos isolados dos capítulos florais de *Egletes viscosa* (GUEDES, 2002); atividade analgésica do mirsinol, diterpeno isolado do *Euphorbia decipiens* (AHMAD et al., 2005); atividade analgésica e antiinflamatória do taxóide, diterpeno isolado do *Taxus baccata* L. (KÜPELI, et al., 2003). Foram descritas, ainda, atividades tanto de relaxamento (DUARTE et al., 1992) como de contração da musculatura lisa (BAZAN et al.; 1993; MIRANDA et al., 1998).

Dentre os diterpenos biologicamente ativos estudados ainda incluem-se: o forskolin, com atividade hipotensora e um ativador específico e reversível das

isoformas particulada e solúvel da adenilil ciclase (SEAMON et al., 1981; DALY, 1981); os ésteres de forbol, ativadores de proteína quinase C, largamente utilizados para o estudo das funções biológicas, propriedades e distribuição desta enzima e na investigação da carcinogênese química (NISHIZUKA, 1986; CHUANG, 1989) e cleonol com atividades hipotensora, espasmolítica inespecífica, cronotrópica positiva e vasodilatadora (DUBEY et al., 1974).

## **1.5 *Egletes viscosa* Less.**

### **1.5.1 Botânica**

A *Egletes viscosa* Less, da família Asteraceae, é uma erva silvestre, anual, e freqüente nas margens de lagoas, açudes, cursos de água do sertão e do litoral nordestino do Brasil, no início da estação seca, após o baixar das águas. O verde intenso de sua folhagem contrasta com a cor parda da lama ressequida conferindo por algum tempo uma beleza verdejante à paisagem da terra rachada tão característica da região nordestina nos períodos de seca (MATOS, 2000).

Existem três espécies de emprego na medicina popular recebendo o nome de macela, o *Chrysanthemum partenium*, o *Achirocline latiroides* e a *Egletes viscosa* Less, que são respectivamente, macela do reino, macela do Brasil e macela da terra (**Figura 3**), esta última é a única erva silvestre existente no Nordeste do Brasil (MATOS, 1991).

No Ceará, a macela pode ser encontrada em todas as regiões do estado. Foram coletadas espécies do sul (Crato) ao norte (Irauçuba), do litoral (Bela cruz e São Gonçalo do Amarante) ao interior (Água Verde e Chorozinho) (SILVEIRA; PESSOA, 2005).

Em Minas Gerais é conhecida como Losna do mato; na Paraíba é chamada de macela do campo e no Peru, Botancella. Está amplamente distribuída na América intertropical (BRAGA, 1976).

Infusões preparadas a partir dos capítulos florais (cabecinhas) são empregadas, na medicina popular, no tratamento de gastrites, cólicas intestinais e males hepáticos (BRAGA, 1960); usada também como estomáquica, carminativa e antiespasmódica (MATOS, 1991). Os capítulos florais, facilmente encontrados no mercado de ervas, podem ser usados na forma de chá ou tintura. O chá, de emprego mais habitual, é preparado na ocasião do uso (MATOS, 2000).

Em 1974, Pio Corrêa descreve a macela como uma planta de folha pinatífida de 2 a 5cm de comprimento, dilatada, solitários capítulos florais, laterais, curtos, pedunculados ou localizados no ápice dos ramos. Descreve ainda como involúcro largo campanulado, brácteas pilosas, lanceoladas e agudas. Corola lanceolada, aguda, alva linguada, aquênio de ápice denteado e quadrangular. As cabecinhas (capítulos florais) aparecem de 1 a 3 meses após a estação chuvosa, sendo a única erva silvestre comumente encontrada às margens das lagoas, açudes e cursos d'água (MATOS, 1990). Para cultivá-las, as sementes devem ser deixadas, inicialmente por um período de quatro a seis semanas, imersas em água, para quebra da dormência, e então semeadas (MATOS, 2000).



**Figura 3.** *Egletes viscosa* Less.

### 1.5.2 Estudos Químico-Farmacológicos

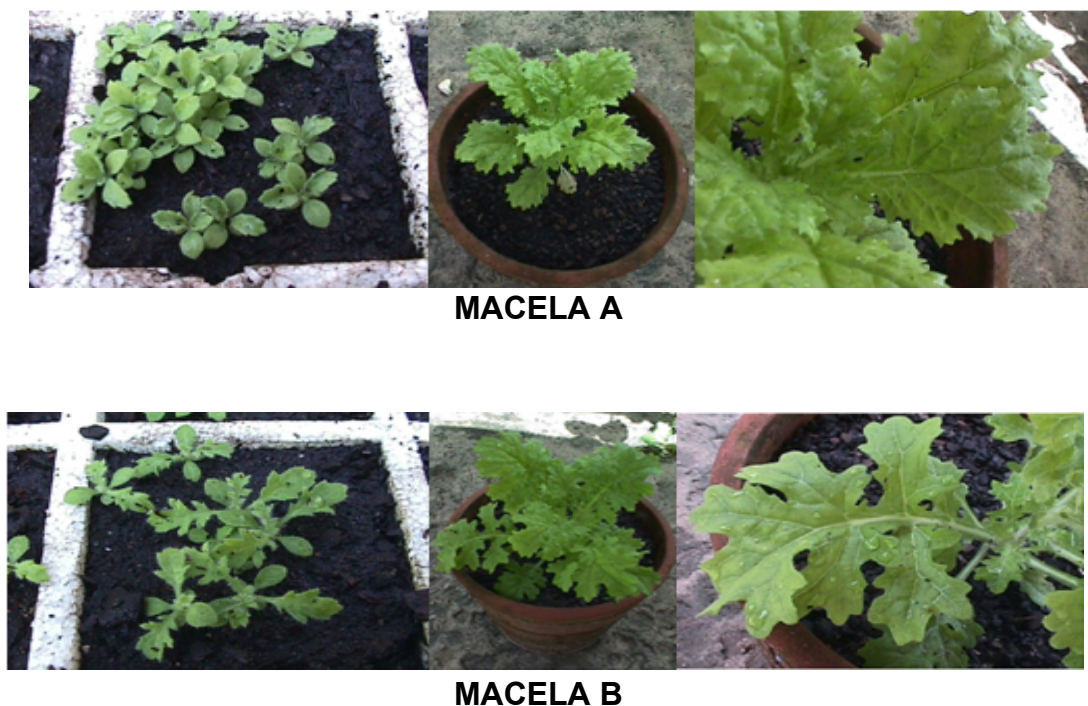
Os estudos iniciais com macela comercial, principalmente no fim da década de 80, permitiram a obtenção de um óleo essencial caracterizado principalmente pela presença majoritária do acetato de *trans*-pinocarveila. Como principais constituintes não voláteis, foram isolados dois diterpenos furânicos: o majoritário, de cadeia linear, o ácido centipédico, e o outro bicíclico, de esqueleto *ent*-clerodano, a lactona do ácido hawtriwaico. Além destes, um flavonóide, a 5,4'-dihidroxi-3,7,8,3'-tetrametoxiflavona comumente designada ternatina (SILVEIRA; PESSOA, 2005).

Estudos anteriores mostraram a atividade farmacológica da ternatina. Esse flavonóide possui atividade no Sistema Nervoso Central (MELO et al., 1993), tem propriedades anti-anafilática, (SOUZA, 1992), anti-trombótica (SOUZA, 1994), gastroprotetora e antidiarréica (RAO et al., 1997), além de ser capaz de inibir a peroxidação lipídica (SOUZA, 1997) e a hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno (SOUZA, 1998). O óleo essencial isolado de *Egletes viscosa* mostrou atividade antinociceptiva, anticonvulsivante e bactericida (SOUZA, 1998).

Com o desenrolar dos estudos químicos-farmacológicos, devido a necessidade de aquisição de mais macela comercial para obtenção e fornecimento de ternatina, verificou-se que uma amostra de macela forneceu um óleo essencial com composição diferente daquela já conhecida motivando o estudo também de seus constituintes químicos não voláteis. O constituinte majoritário do óleo essencial foi caracterizado como uma molécula inédita na literatura derivada do  $\beta$ -pineno, isômero constitucional do acetato de *trans*-pinocarveila, denominado de acetato de *cis*-isopinocarveila. Os principais componentes não voláteis foram a ternatina, e um outro diterpeno furânico, também clerodânico, a dilactona conhecida como bachotricuneatina, isolada anteriormente de *Bacharis tricuneata*, outra Asteraceae (SILVEIRA; PESSOA, 2005).

Observando-se a diferença entre os óleos essenciais, procurou-se saber se as plantas também possuíam diferenças morfológicas. Em colaboração com o Departamento de Química, o Departamento de Agronomia da UFC conseguiu

desenvolver técnicas de cultivo para se obter os dois possíveis quimiotipos de *Egletes viscosa* Less. Após o cultivo, foram detectadas diferenças morfológicas entre as plantas e a análise botânica está em andamento para confirmar a existência de dois quimiotipos (**Figura 4**).



**Figura 4** – *Egletes viscosa*: quimiotipos A e B (Adaptado a partir de SILVEIRA; PESSOA, 2005).

Mais recentemente, os estudos químicos foram estendidos aos chás propriamente ditos, em virtude de ser esta a forma terapêutica usada tradicionalmente. A infusão aquosa liofilizada dos capítulos florais de macela do tipo A, produzida em canteiros experimentais da UFC, foi submetida à prospecção química através de partição líquido-líquido, cromatografia de exclusão em Sephadex LH 20 e cromatografia de adsorção em gel de sílica permitindo o isolamento de grandes quantidades de um sal inorgânico não identificado, ternatina, ácido centipédico e a lactona do ácido hawtriwaico. O mesmo tipo de análise para a infusão liofilizada obtida a partir da macela B, levou ao isolamento também de um sal inorgânico, de ternatina, bachotricuneatina e escopoletina (SILVEIRA; PESSOA, 2005).



### 1.5.3 Ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico

Isolado da *Egletes viscosa* Less, o ácido centipédico, um diterpeno clerodano de cadeia linear é o componente majoritário isolado da *E. viscosa* e possui atividade relaxante em jejuno isolado de rato sobre as contrações induzidas por acetilcolina e serotonina (SIMÕES, 1989), assim como atividade antinociceptiva e gastroprotetora (GUEDES, 2002).

A lactona do ácido hawtriwaico, também um diterpeno clerodano, é um dos componentes majoritários presentes nos capítulos florais da planta. Estudos mostram a sua atividade antiproliferativa em linhagens de células cancerosas humanas *in vitro* com inibição da síntese de DNA (PESSOA, 2000), atividade antinociceptiva e gastroprotetora (GUEDES, 2002), bem como ação antiedematogênica (MELO et al., 2006).

## 2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Atualmente nas regiões mais pobres do Brasil, plantas medicinais são encontradas em feiras livres, mercados populares ou mesmo nos quintais das casas e são usadas no combate à doenças (MACIEL, 1997). Todavia, uma variedade de plantas necessita ser cientificamente estudadas para assegurar sua qualidade, segurança e eficácia (CALIXTO, 2005).

A seleção de espécies vegetais para pesquisa e desenvolvimento baseada na alegação de um dado efeito terapêutico em humanos pode se constituir num valioso atalho para a descoberta de fármacos já que seu uso tradicional pode ser considerado uma pré-triagem quanto à utilidade terapêutica (ELIZABETSKY, 2001).

Considerando-se que as doenças de pele, em particular as dermatites de contato ocupacionais, continuam sendo uma importante causa de afastamento do trabalho (LIM; GONN, 2007). Apesar do enorme progresso alcançado nas últimas décadas com relação ao entendimento da fisiopatologia da dermatite de contato, a droga ideal para o tratamento das dermatites de contato tanto irritativa quanto alérgica, que possa ser utilizada topicamente, com alta eficácia e com poucos efeitos adversos continua sendo um alvo de pesquisa (COHEN; HEIDARY, 2004).

A importância de constituintes de plantas medicinais como os terpenos, alcalóides e polissacarídeos em tratamento de doenças inflamatórias já está bem demonstrado (DARSHAN; DORESWAMY, 2004). Este trabalho de pesquisa visa avaliar o potencial antiinflamatório, em modelos animais de dermatites, de alguns terpenos presentes em plantas de vasta ocorrência no nordeste brasileiro.

O diterpeno ácido centipédico possui atividade relaxante muscular, antinociceptiva e gastroprotetora enquanto que a lactona do ácido hawtriwaico já demonstrou efeito antiproliferativo, antinociceptivo, gastroprotetor e antiedematogênico.

Tais evidências sugerem o potencial destes compostos e da planta da qual foram originados no tratamento de males que afligem os homens.

### **3. OBJETIVO**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar o efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico em modelos animais de dermatite de contato.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- ❖ Avaliar a toxicidade aguda dos terpenos
  
- ❖ Avaliar a atividade antiedematogênica dos terpenos no modelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camundongos.
  
- ❖ Avaliar a atividade dos terpenos sobre os níveis teciduais de mieloperoxidase e de TNF- $\alpha$  assim como no estudo histopatológico no modelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camundongos.
  
- ❖ Avaliar a atividade dos terpenos na hiperplasia da epiderme, sobre os níveis teciduais de INF- $\gamma$  e no estudo histopatológico no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona em camundongos.

## 4. MATERIAIS

### 4.1. Material Botânico

A *Egletes viscosa* Less, foi coletada na plantação experimental do Departamento de Agronomia da UFC e autenticada pelo Prof. Edson de Paula Nunes e depositada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC (#16327). A lactona do ácido hawtriwaico e o ácido centipédico foram obtidos a partir dos capítulos florais da *Egletes viscosa* Less no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC pelo Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira.

### 4.2. Animais Experimentais.

Camundongos albinos (*Mus musculus*) variedade Swiss Webster, adultos, machos, pesando entre 25 e 30g, provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia e do Biotério Central da UFC foram mantidos em caixas de prolipropileno, à temperatura média de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  em ciclos de claro-escuro de 12/12 horas, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água a vontade. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da UFC (protocolo n°. 25/06).

### 4.3. Drogas e Reagentes

<b>PRODUTO</b>	<b>ORIGEM</b>
Ácido clorídrico P.A	Synth
Acetona P.A	Synth
Álcool etílico absoluto P.A	Pro Analysis
Azeite de oliva	Galo
Brometo de hexadeciltrimetilamônio- (HTAB)	Sigma
Citrato de sódio	Reagen
Cloreto de sódio P.A	Synth
Cloreto de Potássio P.A	Vetec
Dexametasona	Medley
EDTA P.A	Sigma
Fosfato de sódio monobásico P.A	Reagen
Fosfato de sódio dibásico P.A	Reagen
Hidrocloreto de $\sigma$ - dianisidine	Sigma
Nitrogênio líquido	White Martins
Oxazolona	Sigma
13-acetato-12-o-tetradecanoil-forbol (TPA)	Sigma
Peróxido de Hidrogênio P.A	Vetec
Trisma base	Sigma
Tween 80	Sigma
Tween 20	Sigma

#### 4.4. Equipamentos

##### Produtos

Analisador Bioquímico RA 50  
Balança para animais (mod. MF-6)  
Balança analítica (mod. AX-200)  
Centrífuga refrigerada (0206281)  
Leitor de placas (mod. DTX 880)  
Micropipetas  
Paquímetro Digital (100.174B)

##### Origem

Bayer  
Filizola  
Shimadzu, Japão  
Cientec  
Backman Coulter  
Biohit  
Digimess

## 5. MÉTODOS

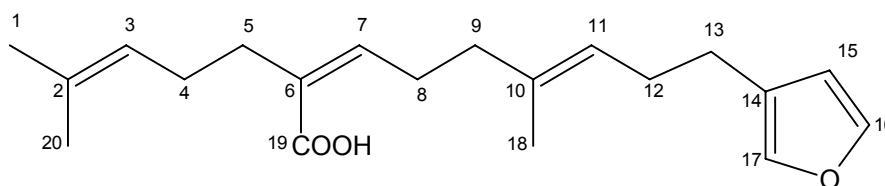
### 5.1. Obtenção do Ácido Centipédico

A extração exaustiva de 2.580g de capítulos florais de *Egletes viscosa*, previamente moídas e utilizando clorofórmio como solvente, forneceu, após filtração e destilação sob pressão reduzida, 200,86 g (7,79 %) de extrato com consistência graxosa de cor verde escuro, que foi denominado EVBFLC.

Duzentos gramas (200,86 g) de EVBFLC foram adsorvidos em 300,00 g de sílica gel, pulverizados em gral de porcelana e acondicionados sobre uma camada de 50,00 g de gel de sílica em funil cilíndrico de 10 cm de diâmetro interno. Após eluição com hexano seguido de clorofórmio, acetato de etila e etanol, separando-se as frações.

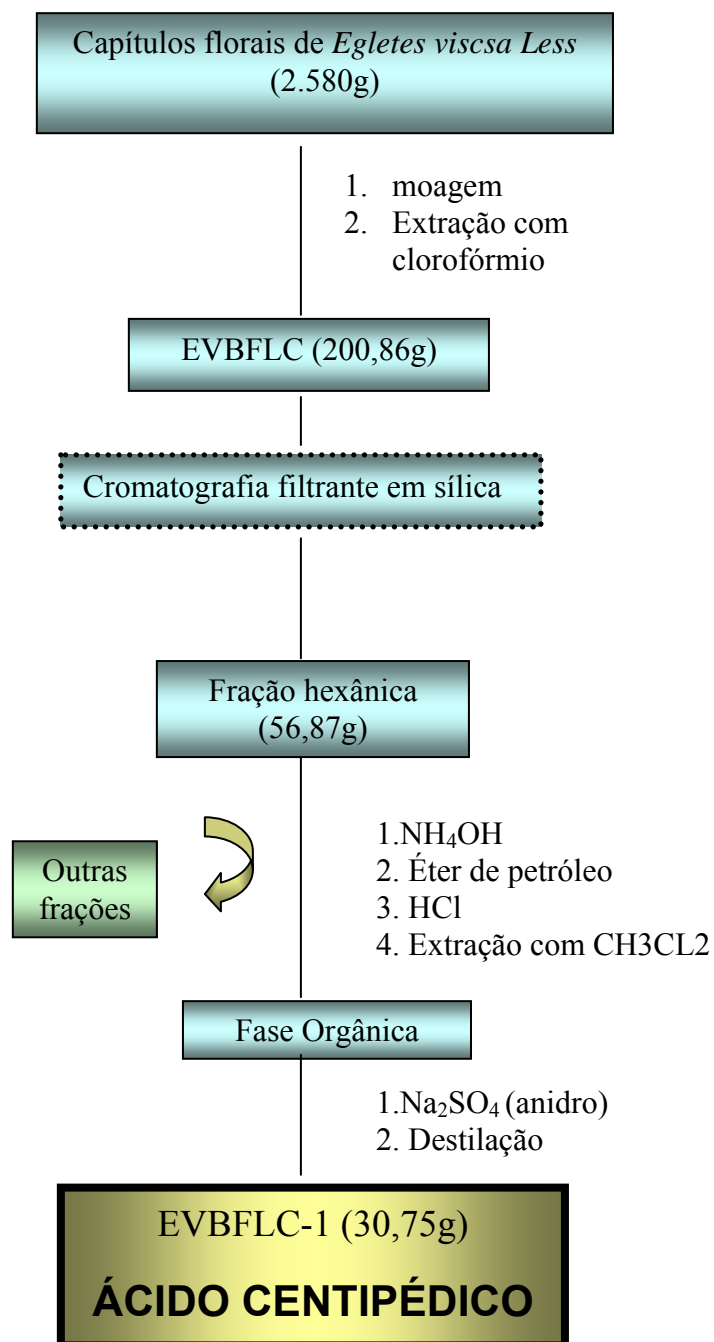
Cerca de 56,87 g do extrato hexânico (EVBFLC-H) foram dissolvidos em 100 mL de etanol e acondicionados em balão de 1000 mL, junto com 300 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  sob agitação. Após 24 horas 700 mL de água destilada foram adicionados à mistura, a retirada da gordura foi realizada com éter de petróleo (5 X 100 mL). A solução aquosa contendo os sais dos ácidos, foi acidificada com HCl até pH 2 e extraída com diclorometano (6 x 100mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente destilado sob pressão reduzida, obtendo-se 30,75 g de um óleo amarelo claro denominado EVBFLC-1.

O EVBFLC-1 foi caracterizado como sendo Ácido Centipédico (**Figura 5**). Esta metodologia foi realizada pelo Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira do departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC (**Figura 6**).



**Figura 5.** Estrutura química do Ácido Centipédico.

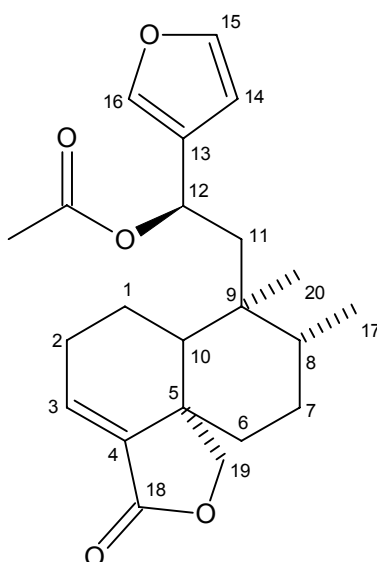




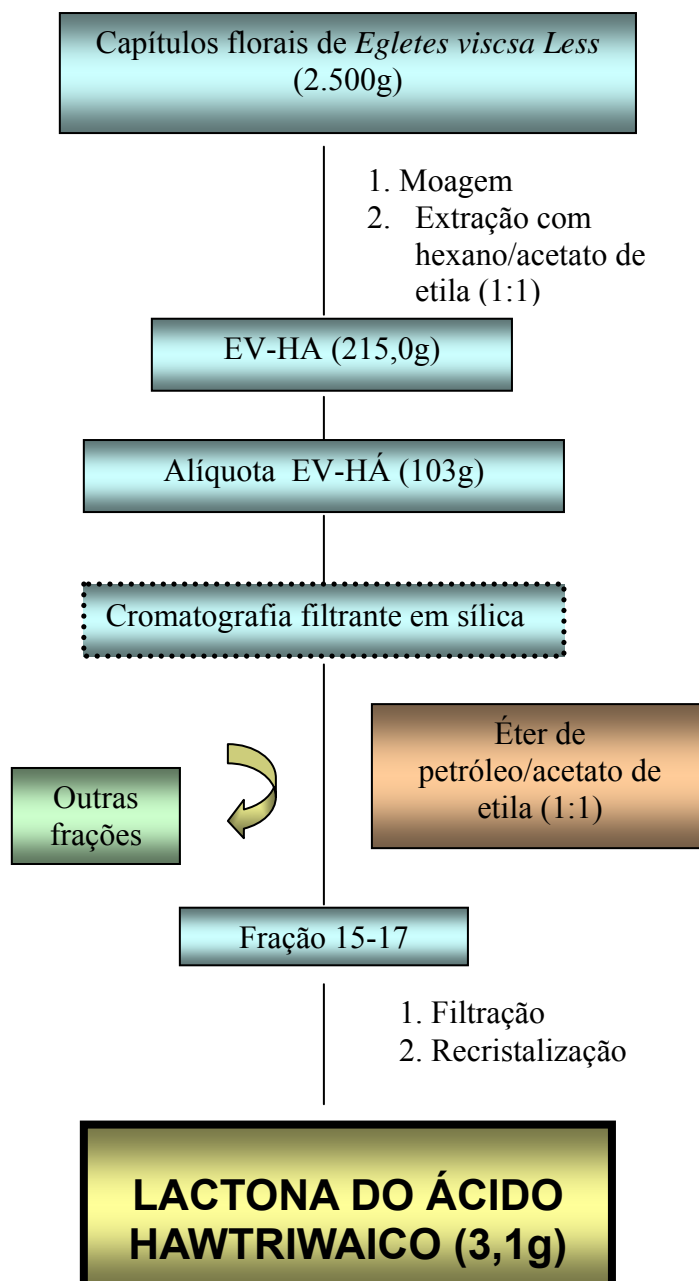
**Figura 6:** Método de obtenção do ácido centipédico.

## 5.2. Obtenção da lactona do ácido hawtriwaico

Dois quilos e meio de capítulos florais de *Egletes viscosa* foram extraídos com 3 a 5 litros de uma solução binária de hexano/acetato de etila 1:1. O solvente foi removido através de pressão reduzida para produzir 215,0g de um extrato viscoso amarelo (EV-HA). Uma alíquota de EV-HA (103g) foi adsorvida em sílica gel (400g) e grosseiramente dividida sobre uma camada de sílica gel (100,0g) por eluição com éter de petróleo (2,0L) e acetato de etila (2,0L). A fração eluída com éter de petróleo/diclorometano 1:1 (47,8g) foi adsorvida em sílica gel e cromatografada sobre uma pequena camada de sílica gel (20,0g) por eluição com uma mistura binária de éter de petróleo/acetato de etila com polaridade crescente. Da fração F15-17, eluída com éter de petróleo/acetato de etila 1:1, foi formado um precipitado. A filtração e recristalização com metanol forneceu 3,1g de um pó fino idêntico (TLC, mp, IR  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) ao diterpeno clerodano lactona do ácido hawtriwaico (**Figura 7**) (LIMA, 1996). Esta metodologia foi realizada pelo Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC (**Figura 8**).



**Figura 7.** Estrutura química da lactona do ácido hawtriwaico.



**Figura 8:** Método de obtenção da lactona do ácido hawtriwaico.

### **5.3 Toxicidade aguda e efeitos comportamentais do ácido centipédico**

Na avaliação dos efeitos comportamentais e determinação da toxicidade aguda do ácido centipédico (AC) foram utilizados camundongos Swiss (25-30g), escolhidos aleatoriamente, separados em grupos de 10 animais cada, e mantidos em jejum por 12 horas. O AC foi administrado, por via oral, em doses crescentes de 500; 1000 e 2000 mg/kg no volume de 10 mL/kg. O grupo controle recebeu igual volume de veículo (3% de Tween 80 em água destilada). Os animais foram observados 30, 60, 90, 120, 150 e 180min após a administração de AC e então em intervalos de 24 horas até completarem 72 horas.

Os parâmetros observados quanto às alterações comportamentais e nos padrões fisiológicos de evacuação e micção e quanto ao número de mortes ocorridas no período de setenta e duas horas.

### **5.4 Dermatite de Contato Irritativa induzida por TPA**

A dermatite foi induzida de acordo com o método descrito por Recio et al (2000) com uma aplicação tópica de 10 µl de uma solução de TPA em acetona (2,5 µl/orelha) na orelha esquerda de camundongos Swiss machos, pesando entre 25-30g e divididos em grupos de dez animais. A espessura da orelha, que quantifica o edema, foi registrada antes e quatro horas após a indução da inflamação fazendo uso de um paquímetro digital (100.174B/ DIGIMESS). Após o registro do edema, na quarta hora após a aplicação do TPA, os animais foram sacrificados e amostras de tecidos das orelhas (5mm) coletadas para a determinação da mieloperoxidase e do TNF- $\alpha$ , assim como para a realização do estudo histopatológico. Os terpenos foram aplicados topicamente num volume de 10 µl simultaneamente ao TPA ou num volume de 10ml/Kg por via oral 45 min antes da aplicação do TPA.

Os terpenos lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico foram utilizados por via tópica nas doses de 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha e por via oral nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg. O controle positivo foi a dexametasona, administrada tópica e oralmente nas doses de 0,5mg/orelha e 1 mg/kg, respectivamente.

### **5.5 Determinação da atividade de Mieloperoxidase (Bradley, 1982)**

Os neutrófilos são considerados a primeira linha de defesa do corpo por serem recrutados rapidamente ao local da inflamação através da quimiotaxia (ABBAS et al., 2002). O aumento significativo da atividade da mieloperoxidase (MPO) tem uma proporção direta ao número de neutrófilos infiltrados no tecido, portanto pode se utilizar sua atividade como índice de migração leucocitária e de estresse oxidativo (SIMPSON et al., 1988; KOMATSU et al., 1992; PERALTA et al., 1993).

Camundongos Swiss machos, pesando entre 25-30g, divididos em grupos de 6 animais foram sacrificados quatro horas após a administração do TPA, as amostras de orelhas foram retiradas, fazendo-se uma excisão de 5mm, e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido. Após o congelamento, as amostras foram homogeneizadas em uma solução de Brometo de hexadeciltrimetilamônio 0,5% (HTAB) em tampão fosfato 50mM pH 6.0 (1 ml por 50g do tecido). O homogenato foi submetido a três ciclos de congelamento, 5 minutos (-70° C) e descongelamento (15 segundos no sonicador). As amostras foram então centrifugadas a 4000rpm numa temperatura de 4° C por 15 minutos para remover o material insolúvel. A MPO contida no sobrenadante (0,1ml) foi analisada espectrofotometricamente após a adição de 2,9ml de tampão fosfato (50mM pH6) contendo 0,167mg/ml de hidrocloreto de  $\theta$  – dianisidine e 0,0005% de peróxido de hidrogênio. As cinéticas de mudança na absorbância a 470nm foram medidas no tempo 0 e 5 minutos (BRADLEY et al., 1982).

### **5.6 Determinação dos níveis teciduais de TNF- $\alpha$**

A administração de anticorpos anti-TNF tem mostrado papel importante nas dermatites de contato alérgica e irritativa (PIGUET et al., 1991, PIGUET et al., 1987).

Camundongos Swiss machos, pesando entre 25-30g, divididos em grupos de 6 animais foram sacrificados após quatro horas da aplicação do TPA, os grupos tratados com os terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, todos aplicados topicamente na dose de 0,5mg/orelha, tiveram as amostras de orelhas

retiradas fazendo-se uma excisão de 5 mm e homogeneizadas em tampão Tris – HCl 50 mM (pH 7,5) com 1mM de EDTA, o homogenato foi então incubado no gelo por 15 minutos. Os homogenatos foram então centrifugados a 10,000 x g por 10 minutos (MURAKAWA et al., 2006).

Após a centrifugação, os sobrenadantes foram separados e os níveis de TNF- $\alpha$  determinados, utilizando para isso um KIT de ELISA para TNF- $\alpha$  de camundongos (R&D – MTA00). O procedimento foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

### **5.7 Dermatite de Contato Alérgica Induzida por Oxazolona**

A indução da dermatite por oxazolona foi realizada de acordo com o método descrito por Young & Young (2000). Camundongos Swiss machos pesando entre 25-30g, divididos em grupos de dez animais, foram sensibilizados, por dois dias consecutivos, com aplicação tópica de 50 $\mu$ l de oxazolona 2% em etanol absoluto no abdômen anteriormente tricotomizado. Após 6 dias da sensibilização, um total de 20 $\mu$ l de oxazolona 1% em uma mistura de acetona e azeite de oliva (4:1) foi aplicada nos dois lados da orelha esquerda dos animais, sendo este considerado o primeiro dia de tratamento. O procedimento foi repetido a cada 72 horas durante 19 dias.

Os terpenos lactona do ácido hawtriwaico e ácido centipédico foram utilizados por via tópica nas doses de 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha num volume de 20  $\mu$ l na orelha esquerda dos animais 30 minutos antes e 3 horas após cada aplicação de oxazolona ou administrados por via oral nas doses de 12,5; 25 e 50 mg/kg, 45 minutos antes da oxazolona. A dexametasona foi utilizada como controle positivo as doses de 0,05 mg/orelha, por via tópica e 1 mg/Kg por via oral.

A espessura das orelhas, que quantifica a hiperplasia da epiderme, foi registrada 72 horas após cada aplicação de oxazolona, usando para isso um paquímetro digital (100.174B/ DIGIMESS). No último dia de tratamento, 19º dia, 6 horas após a última aplicação de oxazolona, os animais foram sacrificados e amostras de tecidos das orelhas (5mm) foram retiradas e processadas para determinação do INF- $\gamma$  assim como para realização do estudo histopatológico.

## 5.8 Determinação dos níveis teciduais de INF – $\gamma$

O IFN- $\gamma$  é crucial para o desenvolvimento da hiperplasia da pele em modelos animais de dermatite (SPERGEL et al., 1999).

Camundongos Swiss machos, pesando entre 25-30g foram sacrificados seis horas após a última aplicação de oxazolona, ou seja, no dia 19, os grupos tratados com os terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, todos aplicados topicamente na dose de 0,5mg/orelha, submetem-se à retirada das amostras de orelha fazendo-se uma excisão de 5mm e homogeneizadas em 1 ml de uma solução de PBS com tween 20 a 0,1%. O homogenato foi então, por duas vezes, congelado a -30°C por 30 minutos e em seguida descongelado no banho maria a 37°C por 15 minutos. Em seguida as amostras foram individualmente submetidas a 15 segundos no sonicador. Os homogenatos foram centrifugados durante 5 minutos a 13,000xg, o sobrenadante retirado e estocado a -30°C até o momento de determinar a citocina (KITAGAKI et al., 1997).

Para quantificar dos níveis teciduais de INF- $\gamma$ , usou-se um KIT de ELISA de INF-  $\gamma$  para camundongos (R&D- MIF00). O procedimento foi realizado de acordo com as instruções do fabricante.

## 5.9 Avaliação Histopatológica

Para verificação das alterações teciduais microscópicas da orelha foram realizados cortes histológicos de todos os grupos tratados no modelo de dermatite de contato induzido por TPA e por oxazolona. O tecido foi fixado em formaldeído tamponado 10% e incluído em parafina. Os cortes foram obtidos através de micrótomo 4  $\mu$ m, corados em lâminas com hematoxilina-eosina e examinadas a microscopia ótica. A análise histopatológica foi realizada pela Profa. Dra. Gerly Anne Castro de Brito do Departamento de Morfologia da UFC.

Dentre os parâmetros utilizados para a determinação do dano tecidual, incluiu-se o infiltrado de mono e polifonucleares, o edema, a hiperplasia epidérmica e a destruição tecidual.

### **5.10 Análise Estatística**

Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M). Para comparação múltipla dos parâmetros foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA), e o nível de significância entre os grupos foi determinada pelo teste de Student Newman Keul.

Em todas as análises, considerou-se estatisticamente significante valores de  $p < 0,05$ .



## 6. RESULTADOS

### 6.1. Obtenção do ácido centipédico

A obtenção do ácido centipédico a partir dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less teve um rendimento de aproximadamente 1,19%.

### 6.2. Obtenção da lactona do ácido hawtriwaico

A extração da lactona do ácido hawtriwaico a partir dos capítulos florais de *Egletes viscosa* Less produziu um rendimento de aproximadamente 0,12%.

### 6.3 Toxicidade aguda e efeitos comportamentais do ácido centipédico

A administração oral de doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg do ácido centipédico (AC) não produziu alterações comportamentais ou alterações nos padrões fisiológicos de evacuação e micção. Não foram observadas mortes durante o período de observação de 72 horas.

### 6.4. Atividade dos terpenos aplicados topicamente no modelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camunongos

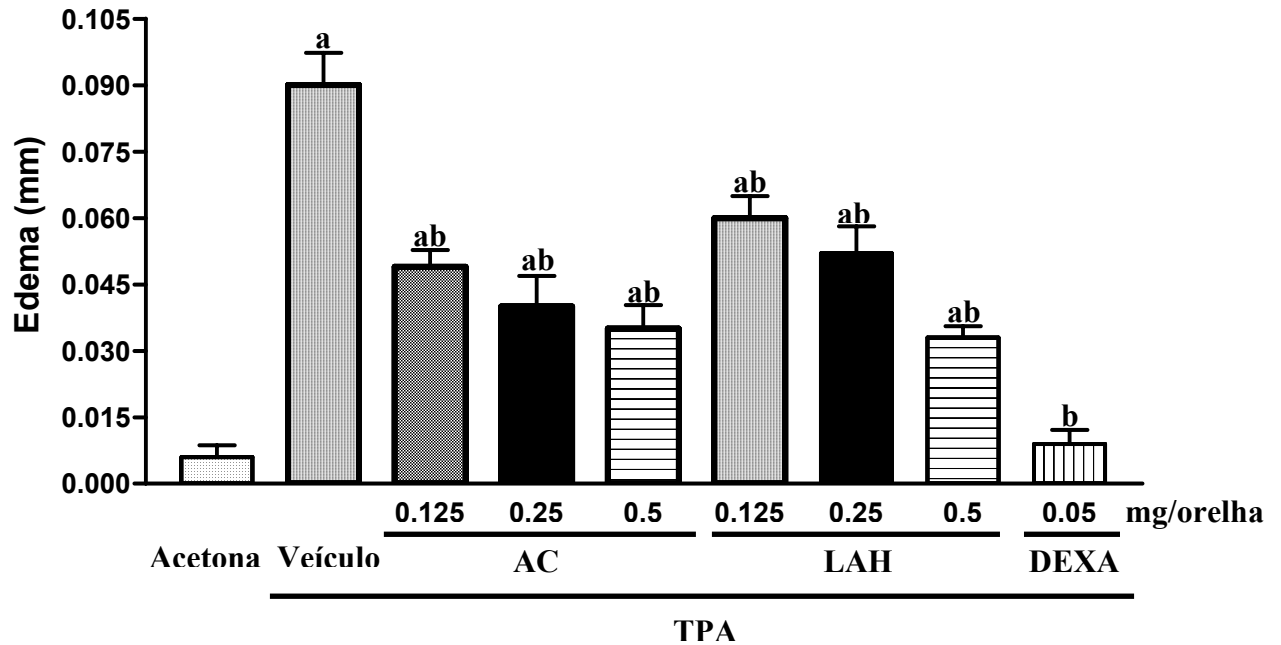
#### 6.4.1. Edema de orelha induzido por TPA

A **Figura 9** demonstra o efeito antiedematogênico da administração tópica dos terpenos ácido centipédico e da lactona do ácido hawtriwaico, no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.

O ácido centipédico nas doses 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha, via tópica, reduziu, de forma significativa ( $p < 0,05$ ), o edema de  $0,090 \pm 0,007$ mm (veículo) para  $0,049 \pm 0,004$ mm;  $0,040 \pm 0,007$ mm;  $0,035 \pm 0,005$  mm (45,5; 55,5 e 61,1%), respectivamente (**Figura 9**).

A lactona do ácido hawtriwaico nas doses 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha reduziu, de forma significativa ( $p < 0,05$ ), o edema de  $0,090 \pm 0,007\text{mm}$  (veículo) para  $0,060 \pm 0,005\text{mm}$ ;  $0,052 \pm 0,006\text{mm}$  e  $0,033 \pm 0,003\text{mm}$  (33,3; 42,2 e 63,3%), respectivamente (**Figura 9**).

A dexametasona, um antiinflamatório esteroide, utilizado como controle positivo, reduziu significativamente ( $p < 0,001$ ) o edema induzido pelo TPA de  $0,090 \pm 0,007\text{mm}$  (veículo) para  $0,009 \pm 0,003145\text{mm}$  (90%) (**Figura 9**).



**Figura 9 – Efeito dos terpenos administrados por via tópica no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.** Veículo (3% de Tween 80 em água destilada, 10 $\mu$ l/orelha), ácido centipédico (AC; 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha), lactona do ácido hawtriwaico (LAH; 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha) e dexametasona (DEXA; 0,05mg/orelha) foram administrados simultaneamente a aplicação tópica do TPA (2,5 $\mu$ /10 $\mu$ l/orelha) na superfície da orelha esquerda. O mesmo volume de acetona foi aplicado na orelha contralateral. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M do edema de orelha (mm) registrado após 4h da aplicação do TPA. Foram utilizados 10 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vs veículo (ANOVA e teste de Student Newman Keul).

#### 6.4.2. Atividade de Mieloperoxidase

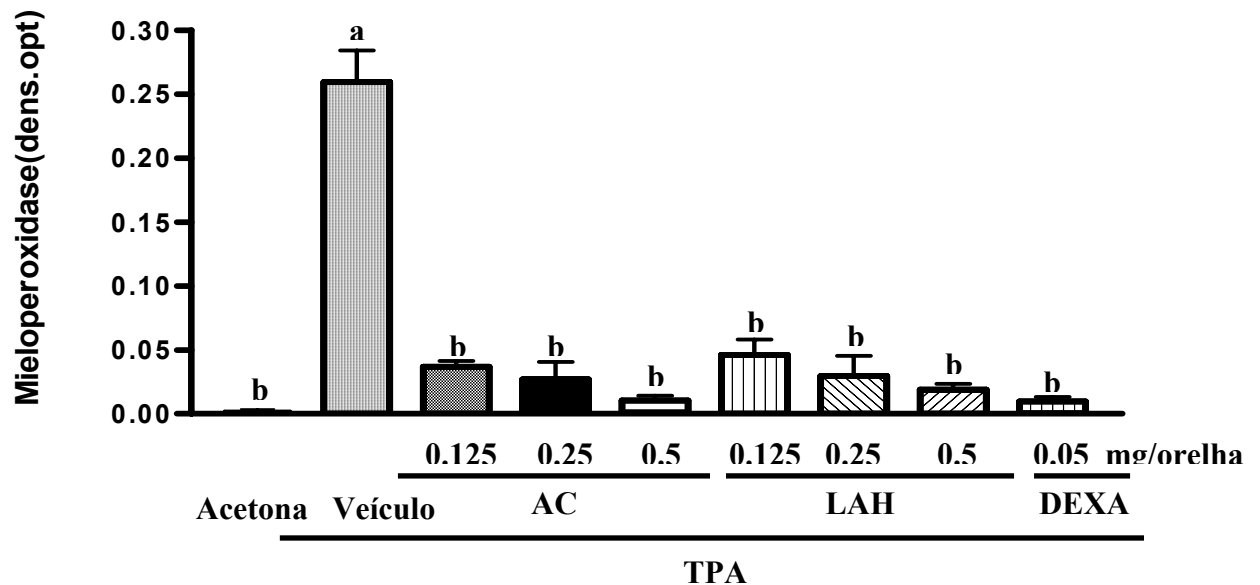
A **figura 10** mostra o efeito antiinflamatório da administração tópica dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, através da diminuição da atividade de mieloperoxidase, em densidade óptica, induzida pela aplicação tópica de TPA em camundongos.

Ambos os terpenos diminuíram a atividade de mieloperoxidase de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

O ácido centipédico nas doses 0,125; 0,25 e 0,5mg/orelha via tópica, reduziu a atividade de mieloperoxidase de  $0,192 \pm 0,035$  (veículo) para  $0,046 \pm 0,0120$ ;  $0,029 \pm 0,015$  e  $0,018 \pm 0,004$  (75,9; 84,1 e 90,1%), respectivamente (**Figura 10**).

A lactona do ácido hawtriwaico nas doses 0,125; 0,25 e 0,5mg/orelha via tópica, reduziu a atividade da mieloperoxidase de  $0,259 \pm 0,024$  (veículo) para  $0,036 \pm 0,004$ ;  $0,026 \pm 0,013$  e  $0,0102 \pm 0,003$  (83,8; 89,6 e 94,6%), respectivamente (**Figura 10**).

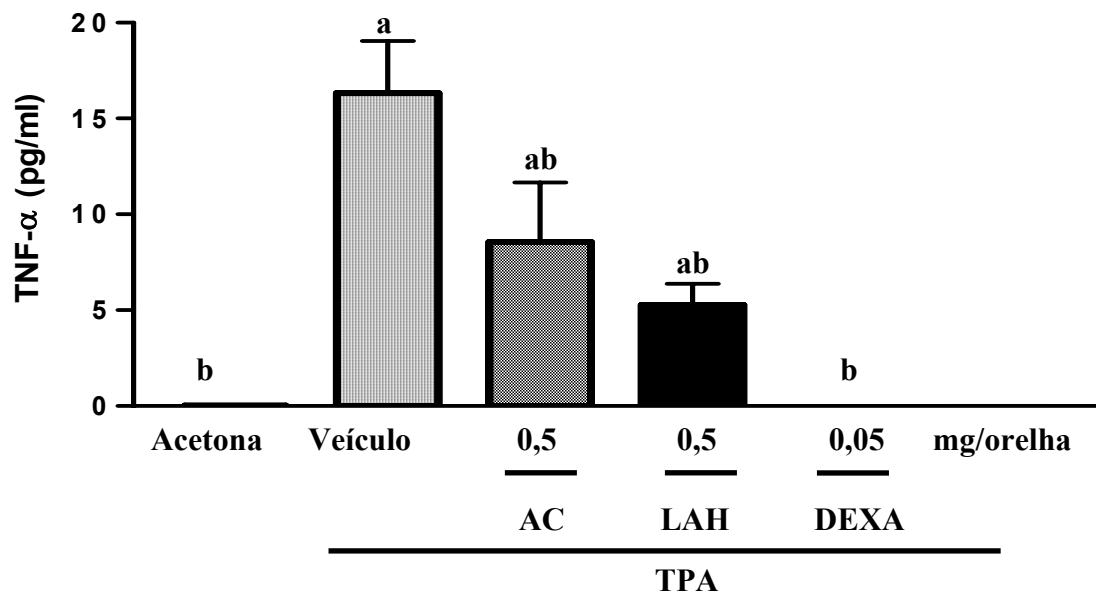
A dexametasona, utilizada como controle positivo, reduziu a atividade da MPO em 96,2% (**Figura 10**).



**Figura 10. Efeito dos terpenos administrados por via tópica na atividade de mieloperoxidase induzidos por TPA em camundongos.** Veículo (3% de Tween 80, via tópica, 10 $\mu$ l/orelha), ácido centipédico (AC 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha via tópica), lactona do ácido hawtriwaico (LAH 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha via tópica) e dexametasona (0,05mg/orelha, via tópica) foram administrados simultaneamente a aplicação tópica do TPA (2,5 $\mu$ / 10 $\mu$ l/ orelha) na superfície da orelha esquerda. O mesmo volume de acetona foi aplicado na orelha contralateral. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M dos níveis teciduais de mieloperoxidase (densidade óptica). Foram utilizados 6 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vc veículo (ANOVA e teste de Student- Newman-Keul).

### 6.4.3 Níveis teciduais de TNF- $\alpha$

A **figura 11** mostra o efeito dos terpenos sobre os níveis teciduais de TNF-  $\alpha$  induzidos pela aplicação tópica de TPA. O ácido centipédico e a lactona do ácido hawtriwaico diminuíram os níveis teciduais de TNF- $\alpha$  em 16,6 e 67,6% respectivamente. A dexametasona, usada como controle positivo, foi capaz de anular totalmente a ação do TPA sobre os níveis teciduais de TNF- $\alpha$

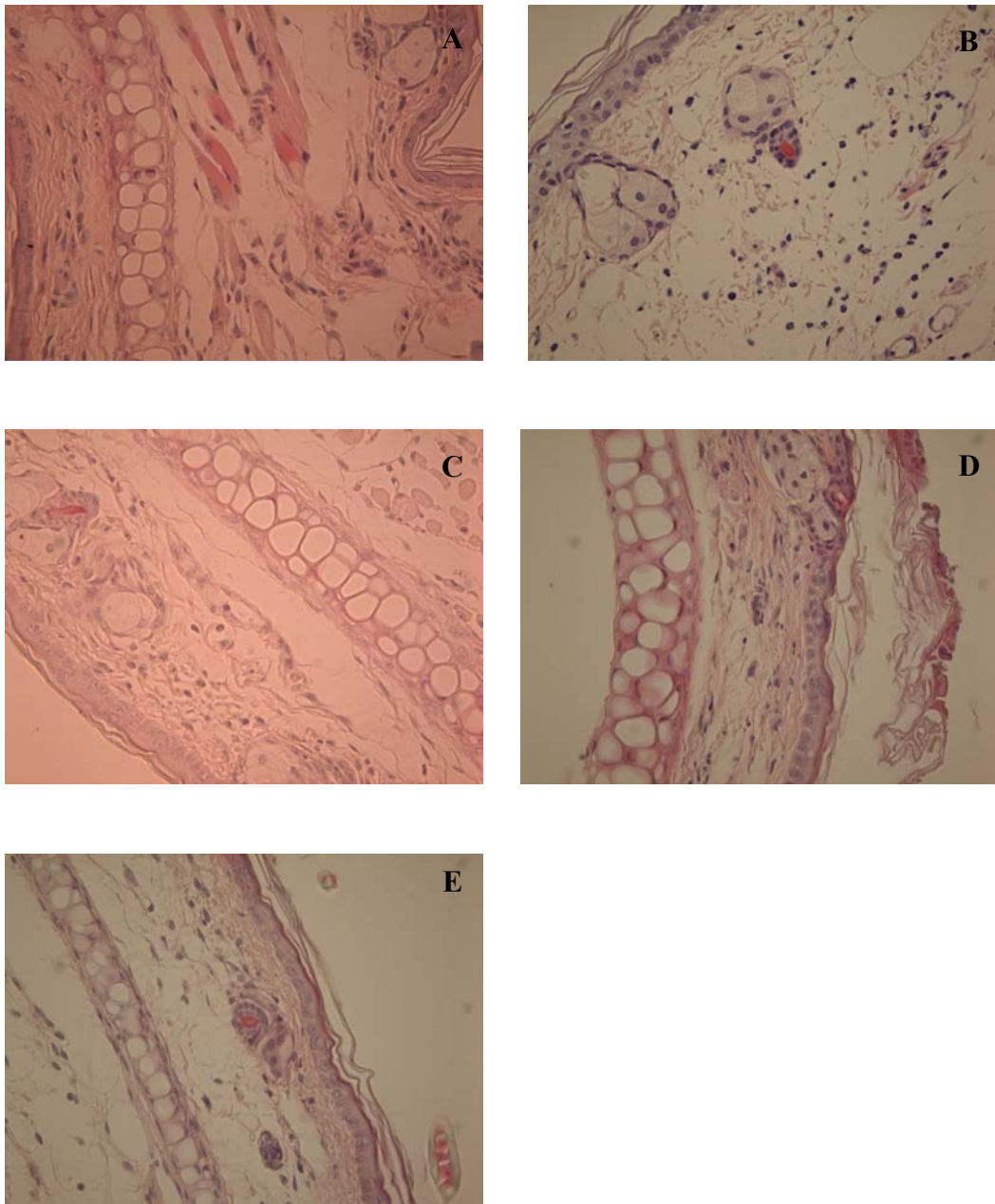


**Figura 11. Efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico administrada por via tópica nos níveis teciduais de TNF- $\alpha$  induzidos por TPA em camundongos.** Veículo (3% de Tween 80, via tópica, 10 $\mu$ l/orelha), ácido centipédico (AC) e lactona do ácido hawtriwaico (LAH), todos por via tópica na dose de 0,5mg/orelha e dexametasona (0,05 mg/orelha) foram administrados simultaneamente a aplicação tópica do TPA (2,5 $\mu$ / 10 $\mu$ l/ orelha) na superfície da orelha esquerda. O mesmo volume de acetona foi aplicado na orelha contralateral. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M dos níveis de TNF- $\alpha$  (pg/ml). Foram utilizados 6 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vc veículo (ANOVA e teste de Student- Newman-Keul).

#### 6.4.4 Análise Histológica

A administração de TPA (2.5µg/orelha) induziu um edema intenso e infiltrado de células inflamatórias com presença de células mononucleares e polimorfonucleares (Fig 12B). O tratamento com dexametasona (0.05mg/orelha), ácido centipédico (0.5mg/orelha) e lactona do ácido hawtriwaico (0.5mg/orelha) diminuiu o edema da derme e a infiltração de células inflamatórias (Fig.12 C, D e E respectivamente). **Figura 12.**





**Figura 12. Análise histológica de orelhas de camundongos submetidos à indução de DCI por TPA.** A: controle veículo; B: grupo tratado com TPA (2.5µg/orelha) mostrando edema intenso, infiltração de células inflamatórias com presença de células mononucleares e polimorfonucleares; C: Dexametasona (0.05mg/ orelha) + TPA; D: ácido centipédico (0.5mg/ orelha) + TPA; E: LAH (0.5mg/ orelha) + TPA. O tratamento com dexametason, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico melhorou o edema e o infiltrado de células inflamatórias. Hematoxilina-eosina X 100.

## 6.5 Efeito dos terpenos administrados por via oral o medelo de dermatite de contato irritativa induzida por TPA em camundongos

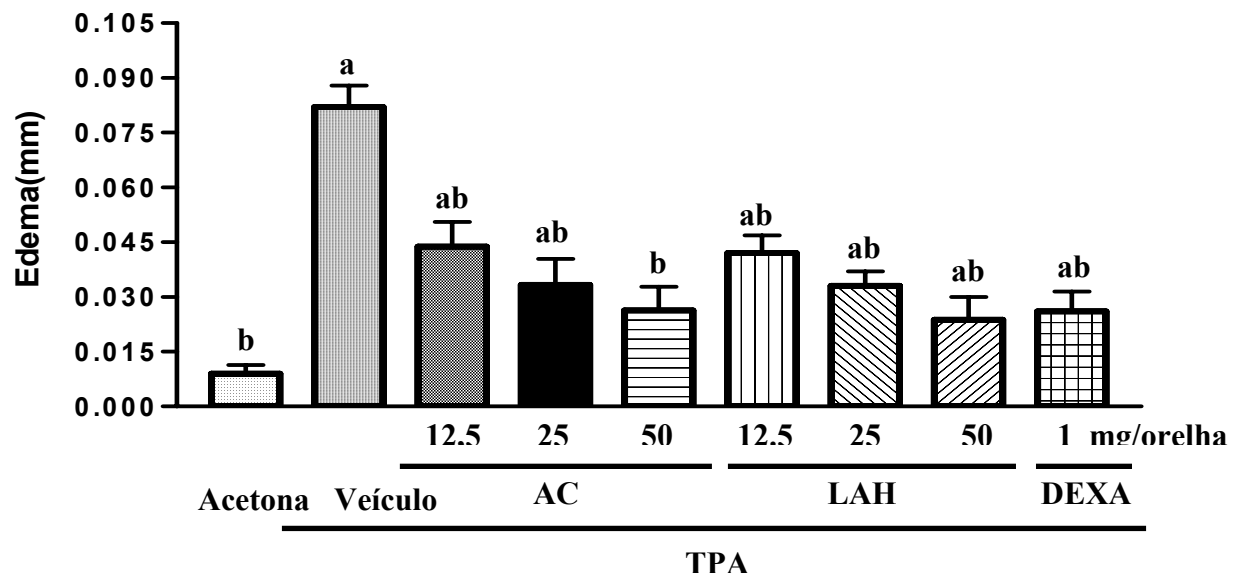
### 6.5.1 Edema de orelha induzido por TPA

A **figura 13** mostra o efeito antiedematogênico da administração oral dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.

O ácido centipédico nas doses 12,5; 25 e 50 mg/kg v.o., reduziu, de forma significativa ( $p < 0,05$ ), o edema de  $0,082 \pm 0,005\text{mm}$  (veículo) para  $0,043 \pm 0,006\text{mm}$ ;  $0,033 \pm 0,007\text{mm}$  e  $0,026 \pm 0,006\text{mm}$  (46,6; 59,3 e 67,9%), respectivamente (**Figura 13**).

A lactona do ácido hawtriwaico nas doses 12,5; 25 e 50 mg/kg v.o., reduziu, de forma significativa ( $p < 0,05$ ), o edema de  $0,082 \pm 0,005\text{mm}$  (veículo) para  $0,042 \pm 0,004\text{mm}$ ;  $0,033 \pm 0,003\text{mm}$  e  $0,023 \pm 0,006\text{mm}$  (58,7; 59,7 e 71,0%), respectivamente (**Figura 13**).

A dexametasona, antiinflamatório esteroideal utilizado como controle positivo, reduziu sensivelmente o edema induzido por TPA de  $0,0820 \pm 0,005925\text{mm}$  (veículo) para  $0,0220 \pm 0,005416\text{mm}$  (73,1%).



**Figura 13. Efeito dos terpenos administrados por via oral no edema de orelha induzido por TPA em camundongos.** Veículo (3% de Tween 80, via tópica, 10µl/orelha), ácido centipédico (AC 12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o ) lactona do ácido hawtriwaico (12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o) e dexametasona (1 mg/kg, v.o) foram administrados 45 min antes da aplicação tópica do TPA (2,5µ/ 10µl/ orelha) na superfície da orelha esquerda. Os valores representam a média ± E.P.M do edema de orelha (mm). Foram utilizados 10 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vc veículo (ANOVA e teste de Student- Newman-Keul).

### 6.5.2 Atividade de Mieloperoxidase

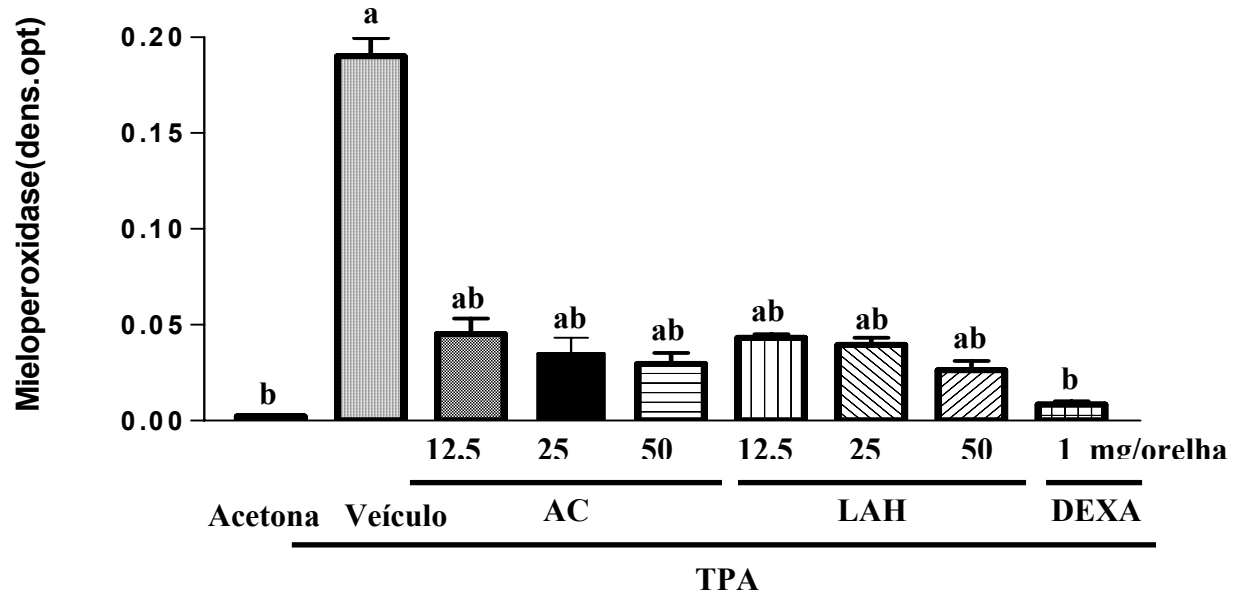
A **figura 14** mostra o efeito antiinflamatório da administração oral dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, através da diminuição da atividade de mieloperoxidase, em densidade óptica, induzida pela aplicação tópica de TPA em camundongos.

Todos os terpenos reduziram a atividade de mieloperoxidase de forma significativa ( $p < 0,05$ ).

O ácido centipédico nas doses 12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o, reduziu a atividade de mieloperoxidase de  $0,190 \pm 0,009$  (veículo) para  $0,045 \pm 0,008$ ;  $0,035 \pm 0,008$  e  $0,029 \pm 0,005$  (76,2; 81,4 e 84,4%), respectivamente (**Figura 14**).

A lactona do ácido hawtriwaico nas doses 12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o, reduziu a atividade de mieloperoxidase de  $0,190 \pm 0,009$  (veículo) para  $0,043 \pm 0,001$ ;  $0,039 \pm 0,003$  e  $0,026 \pm 0,004$  (77,2; 79,1 e 86,2%), respectivamente (**Figura 14**).

A dexametasona, administrada oralmente, reduziu a atividade da MPO para  $0,008 \pm 0,001$ , o que representa uma redução de 95,6% quando comparada ao controle veículo.



**Figura 14. Efeito dos terpenos administrados por via oral na atividade da mieloperoxidase induzidos por TPA em camundongos.** Veículo (3% de Tween 80, via tópica, 10 $\mu$ l/orelha), ácido centipédico (AC12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o), lactona do ácido hawtriwaico (LAH 12,5; 25 e 50 mg/kg, v.o) e dexametasona (1 mg/kg, v.o) foram administrados 45 min antes da aplicação tópica do TPA (2,5 $\mu$ l/ 10 $\mu$ l/ orelha) na superfície da orelha esquerda. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M dos níveis de mieloperoxidase (densidade óptica). Foram utilizados 6 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vc veículo (ANOVA e teste de Student- Newman-Keul).

## 6.6 Atividade dos terpenos aplicados topicamente no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona

### 6.6.1 Hiperplasia epidérmica induzida por oxazolona

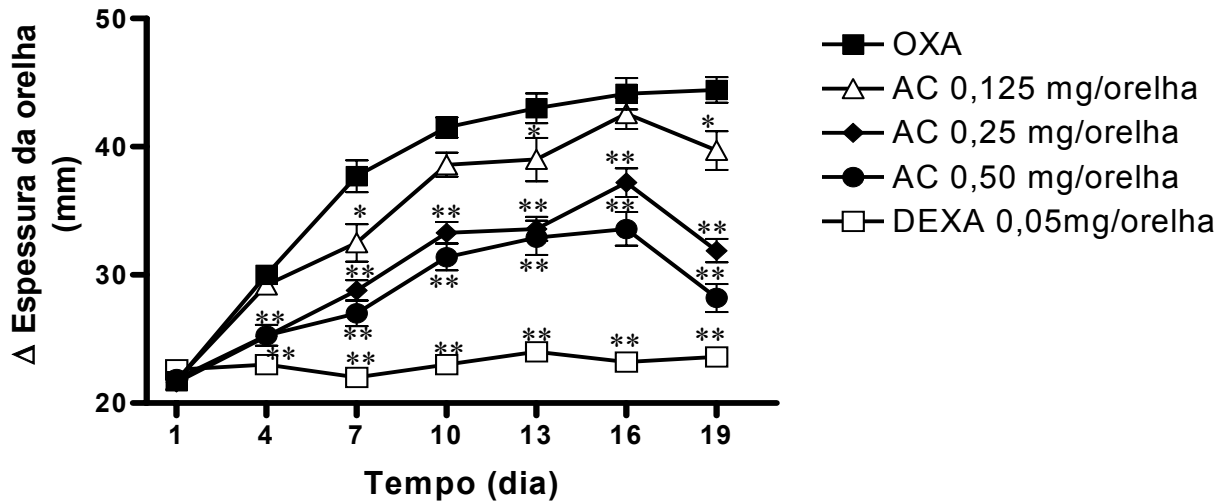
As **figuras 15 e 16** mostram o efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico administrados topicamente na hiperplasia epidérmica induzida por oxazolona em camundongos através da variação da espessura da pele da orelha dos animais.

O ácido centipédico nas doses 0,25 e 0,5 mg/orelha, via tópica, reduziu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona (1%/orelha) em todos os períodos de observação (4° - 19° dia).

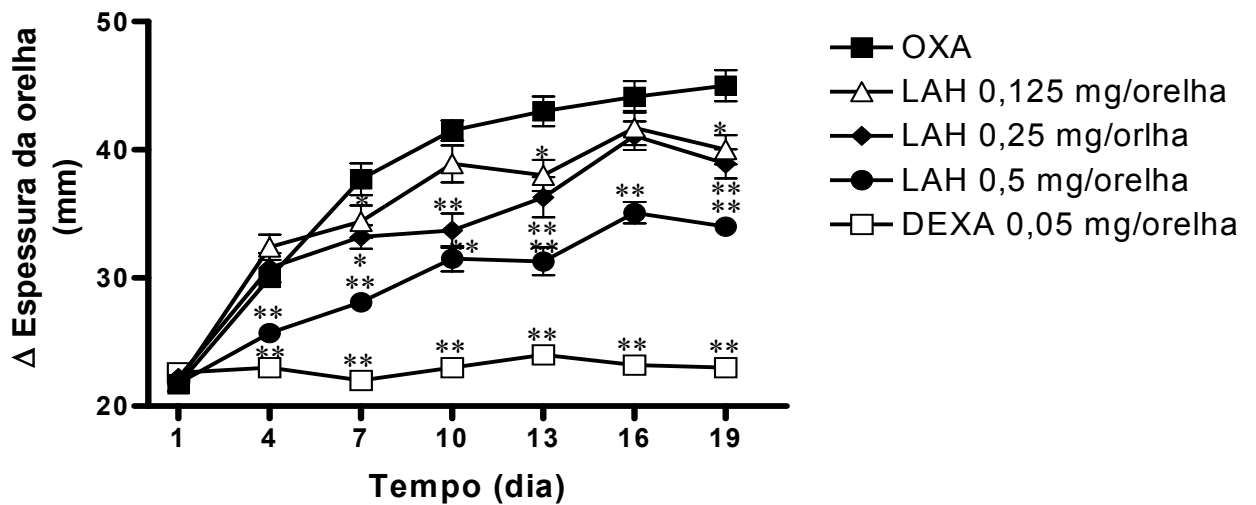
Na dose de 0,125mg/orelha, via tópica, o ácido centipédico reduziu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona (1%/orelha) somente no 7°, 13° e 19° dia de observação (**Figura 15**).

A lactona do ácido hawtriwaico aplicada topicamente na dose de 0,5 mg/orelha diminuiu significativamente ( $p < 0,05$ ) a hiperplasia induzida por oxazolona (1%/orelha) em todos os períodos de observação (4° - 19° dia), enquanto que nas doses de 0,125 e 0,25 diminuiu a hiperplasia epidérmica de forma significativa ( $p < 0,05$ ) nos dias 4, 7, 10, 13, 19 e 7, 13, 19, respectivamente (**Figura 16**).

A dexametasona, antiinflamatório esteroide usado como controle positivo, anulou o efeito da oxazolona sobre a hiperplasia epidérmica.



**Figura 15. Efeito do ácido centipédico e dexametasona administrados por via tópica sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.** Ácido centipédico (AC) foi aplicado por via tópica, nas doses 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha e a dexametasona na dose de 0,05mg/orelha. Seis dias após a sensibilização, a oxazolona foi aplicada nos dois lados da orelha esquerda dos animais a cada três dias. O ácido centipédico e a dexametasona foram aplicados topicamente na orelha 30 min antes e três horas depois de cada aplicação de oxazolona. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M da espessura da orelha (mm). Foram utilizados 10 animais por grupo. \*  $p < 0,05$  vs controle oxazolona; \*\*  $p < 0,001$  vs controle oxazolona.

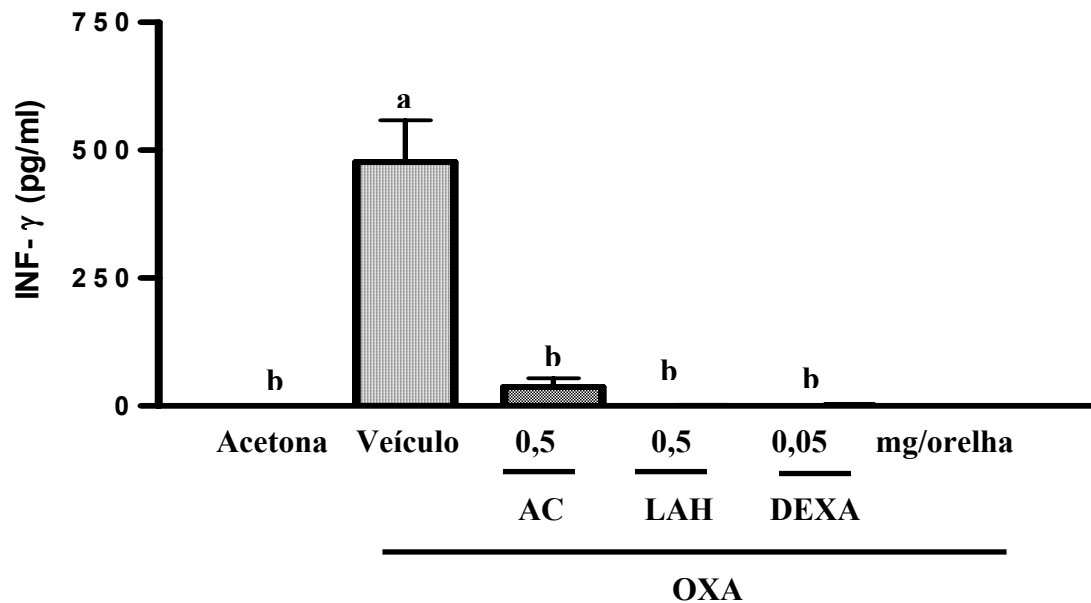


**Figura 16. Efeito da lactona do ácido hawtriwaico e dexametasona administrados por via tópica sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.** A lactona do ácido hawtriwaico (LAH) foi aplicada via tópica, nas doses 0,125; 0,25 e 0,5 mg/orelha e a dexametasona na dose de 0,05mg/orelha. Seis dias após a sensibilização, a oxazolona foi aplicada nos dois lados da orelha esquerda dos animais a cada três dias. A lactona do ácido hawtriwaico e a dexametasona foram aplicados topicamente na orelha 30 min antes e três horas depois de cada aplicação de oxazolona. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M da espessura da orelha (mm). Foram utilizados 10 animais por grupo. \*  $p < 0,05$  vs oxazolona; \*\*  $p < 0,001$  vs controle oxazolona.



### 6.6.2 Níveis teciduais de INF- $\gamma$

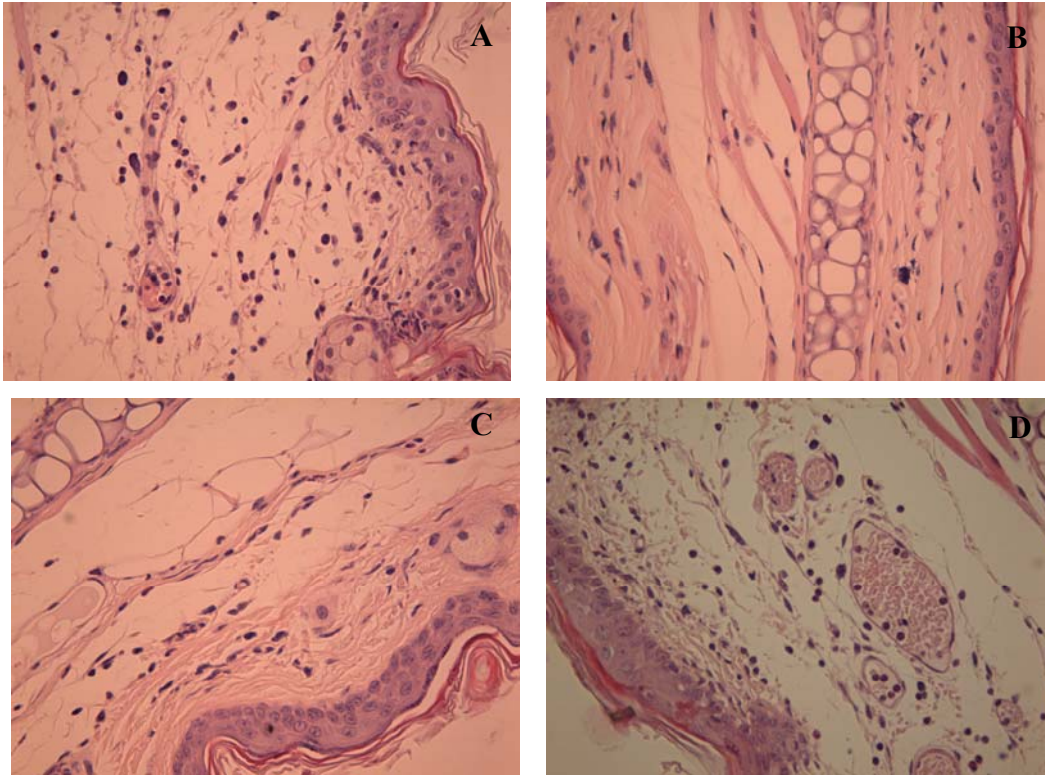
A **figura 17** mostra o efeito dos terpenos sobre os níveis teciduais de INF- $\gamma$  induzidos por várias aplicações tópicas de oxazolona em camundongos. O ácido centipédico e a lactona do ácido diminuíram os níveis de INF- $\gamma$  em 92,2 e 99,4%, respectivamente. A dexametasona, usada como controle positivo, foi capaz de diminuir a ação da oxazolona sobre os níveis teciduais de INF- $\gamma$  em 99,3%



**Figura 17. Efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, administrados por via tópica, nos níveis teciduais de IFN- $\gamma$  induzidos por oxazolona em camundongos.** Veículo (acetona via tópica; 10 $\mu$ l/orelha), ácido centipédico (AC) e lactona do ácido hawtriwaico (LAH), por via tópica na dose de 0,5mg/orelha e dexametasona (0,05mg/orelha). Seis dias após a sensibilização, a oxazolona foi aplicada nos dois lados da orelha esquerda dos animais a cada três dias. Os terpenos e a dexametasona foram aplicados topicamente na orelha 30 min antes e três horas depois de cada aplicação de oxazolona. Foram utilizados 6 animais por grupo. <sup>a</sup>p<0,05 vs acetona; <sup>b</sup>p<0,05 vc veículo (ANOVA e teste de Student- Newman-Keul).

### 6.6.3 Análise Histológica

A administração de oxazolona (1%/orelha) induziu edema intenso além de hiperplasia da epiderme e infiltração de células inflamatórias tanto mononucleares como plimorfonucleares. O tratamento com dexametasona (0.05mg/ear), ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico foi capaz de reduzir o edema e o infiltrado de células inflamatórias (**Figura 18**).



**Figura 18. Análise histológica de orelhas de camundongos submetidos à indução de DCA por oxazolona.** A: oxazolona (2.5µg/orelha) mostrando edema intenso na derme, hiperplasia da epiderme e infiltrado de células inflamatórias com presença de células mononucleares e polimorfonucleares B: Dexametasona (0.05mg/orelha) + OXA; C: ácido centipédico (0.5mg/orelha) + OXA; D: lactona do ácido hawtriwaico (0.5mg/orelha) + OXA;. O tratamento com dexametason e ácido centipédico melhorou o edema e o infiltrado de células inflamatórias. O tratamento com a lactona do ácido hawtriwaico reduziu essas alterações histológicas apenas parcialmente. Hematoxilina-eosina. X 100.

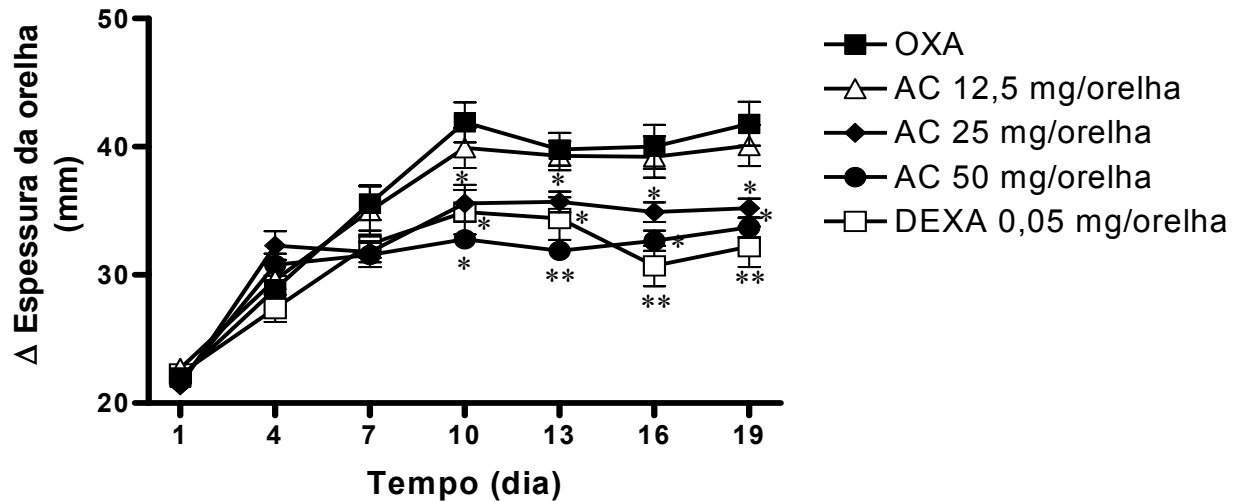
## 6.7 Atividade do ácido centipédico administrado por via oral no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona

A **figura 19** mostra o efeito do terpeno ácido centipédico administrado oralmente, na hiperplasia epidérmica induzida por oxazolona em camundongos através da variação da espessura da pele da orelha dos animais.

Não foi possível avaliar o efeito da lactona do ácido hawtriwaico administrada oralmente na hiperplasia da epiderme induzida por oxazolona por escassez do material em questão.

O ácido centipédico nas doses 25 e 50mg/kg, v.o, melhorou de forma significativa ( $p < 0,05$ ) a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona (1%/orelha) do 7° ao 19° dia de observação (**Figura 19**).

A dexametasona, usada como controle positivo, diminuiu a espessura da orelha de  $40.00 \pm 1.706\text{mm}$  (controle oxazolona) para  $30.700 \pm 1.592\text{mm}$ .



**Figura 19. Efeito do ácido centipédico e dexametasona administrados por via oral sobre a hiperplasia epidérmica da orelha induzida por oxazolona em camundongos.** O ácido centipédico, administrado via oral, nas doses 12,5; 25 e 50mg/kg e a dexametasona na dose 1mg/kg. Seis dias após a sensibilização, a oxazolona foi aplicada nos dois lados da orelha esquerda dos animais a cada três dias. O ácido centipédico e a dexametasona foram administrados oralmente 45 min antes de cada aplicação de oxazolona. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M da espessura da orelha (mm). Foram utilizados 10 animais por grupo. \*  $p < 0,05$  vs oxazolona; \*\*  $p < 0,001$  vs controle oxazolona.

## 7. DISCUSSÃO

A utilização de plantas medicinais tornou-se um recurso terapêutico alternativo de grande aceitação pela população e vem crescendo junto à comunidade médica, desde que sejam utilizadas plantas cujas atividades biológicas tenham sido investigadas cientificamente, comprovando sua eficácia e segurança (CHECHINEL; YUNES, 1998; KINGORN, 2001).

A importância das plantas medicinais deve-se também por sua contribuição como fonte natural de fármacos e por proporcionar grandes chances de obter-se uma molécula protótipo devido à diversidade de constituintes presentes nestas (KINGORN, 2001; MORETTO, 2000).

A *Egletes viscosa*, uma Asteraceae, popularmente denominada por macela ou macela da terra, é uma erva bastante utilizada pela medicina popular, onde os capítulos florais são utilizados principalmente no tratamento de distúrbios gastrointestinais (MATOS, 2002). Investigações científicas com o extrato bruto, óleo essencial e com constituintes isolados, ternatina (flavanóide) e diterpenos (ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico) de *E. viscosa* revelaram um espectro de atividades farmacológicas que incluem atividade antiinflamatória, antianafilática, gastroprotetora, hepatoprotetora, antiproliferativa, anticonvulsivante, antiespasmódica e antimicrobiana (SIMÕES, 1989; SOUZA, 1992; MELO, 1993; SOUZA, 1994; SOUZA, 1997 e 1998; PESSOA e col. 2000; GUEDES et al., 2002; MELO, 2006). Além disso, o extrato bruto da planta, assim como seus constituintes químicos isolados, não demonstraram toxicidade em doses de até 2g/kg (GUEDES, 2002; MELO, 2006). Deste modo, estes estudos pré-clínicos validam o uso popular da *E. viscosa*, em termos de eficácia e segurança.

Conhecendo a importância da *E. viscosa* na medicina tradicional no tratamento de doenças relacionadas ao processo inflamatório e sabendo que os diterpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico são constituintes majoritários nesta planta, o objetivo primário deste trabalho foi continuar as pesquisas com esses diterpenos, avaliando o seu potencial antiinflamatório e antialérgico no edema de orelha induzido por TPA ou oxazolona em camundongos,

modelos comumente utilizados para a pesquisa de agentes úteis na dermatite de contato ou atópica (ZHANG; TINKLE, 2000; MURAKAWA et al., 2006).

A dermatite é uma inflamação polimórfica da pele. A fase aguda é caracterizada por vermelhidão, prurido, inchaço, vesículas, com formação de crostas e escamas durante o processo de cicatrização. A fase crônica é caracterizada por ressecamento, hiperqueratose e fissuras da pele. Existem muitas formas de dermatite, sendo as mais comuns a dermatite atópica e a hipersensibilidade de contato (ROSS et al., 2001). Embora estas sejam completamente diferentes na natureza e não relacionadas na sua patogênese, ambas exibem alterações morfológicas comuns na sua fase aguda, com formação de vesículas, que causam a ruptura da barreira epidérmica e a conseqüente perda da função protetora da epiderme (SCHWARZ, 2000).

Nas últimas três décadas, a prevalência da dermatite atópica e alérgica ou dermatite de contato irritativa tem aumentado significativamente na população, causando consideráveis custos econômicos e diminuindo a qualidade de vida dos pacientes (MORTZ et al., 2001; KIEĆ-SWIERCZYŃSKA; GATES, 2007; PÓNYAI et al., 2007).

O tratamento da dermatite de contato irritativa é um dos maiores problemas na clínica dermatológica. As drogas disponíveis, como os corticóides tópicos e inibidores da calcineurina como tacrolimus e pimecrolimus, apesar de terem eficácia estão associados com efeitos adversos. Portanto ainda se faz necessário o desenvolvimento de novos e seguros agentes tópicos antiinflamatórios para o tratamento da dermatite (BREUER et al., 2005; BUYS, 2007).

A dexametasona, um corticosteróide usado clinicamente no tratamento das desordens da pele, é conhecido por sua potente atividade antiinflamatória e imunossupressora, contudo seu efeito tópico pode causar intensa atrofia da pele, um dos mais importantes efeitos colaterais de seu uso nas doenças crônicas (SCHÄFER-KORTING et al., 1996; OIKARINEN et al., 1998; ASHWELL et al., 2000).



Estudos revelam que um grande percentual dos pacientes usa alguma forma de medicina alternativa e complementar para o tratamento da dermatite de contato e atópica, o que inclui o uso de plantas medicinais (VENDER, 2002; SIMPSON et al., 2003; NICOLAOU et al., 2004).

Vários compostos terpênicos originados de plantas como o ácido abiético de *Pimenta racemosa* var. *grisea*, *hypoestaxide* de *Hypoestes rósea* e *marrubiin* de *Marrubium vulgare* demonstraram eficácia em modelo de edema de orelha em camundongos induzido por vários agentes como histamina, bradicinina, capsaicina, prostaglandina E<sub>2</sub>, óleo de *Croton*, TPA ou oxazolona (FERNÁNDEZ et al., 2001; OJO-AMAIZE et al., 2001; STULZER et al., 2006).

O edema de orelha induzido por diferentes irritantes fornece uma série de modelos de inflamação úteis para a avaliação de agentes sintéticos, substâncias isoladas de plantas, extratos vegetais, produtos marinhos, dentre outros, que podem ser administrados por via tópica ou sistêmica. Além disso, o edema de orelha é um método rápido e simples que requer pequenas quantidades das substâncias a serem testadas e fornece resultados reproduzíveis. A via tópica de administração de drogas (ex. corticóides) é preferida no tratamento de condições clínicas como eczema, dermatite atópica, seborréica e psoríase (Gabor, 2003).

A aplicação tópica do ativador de proteína quinase C e promotor tumoral, 13-acetato de 12-o-tetradecanoilforbol (TPA), é um modelo válido para a avaliação de compostos com potencial e eficácia na terapia antiinflamatória tópica. A aplicação única de TPA induz estresse oxidativo, inflamação cutânea e hiperplasia da epiderme devido ao aumento na proliferação de queratinócitos. O TPA também induz a produção de TNF $\alpha$ , formação de leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), aumento na permeabilidade vascular e influxo de neutrófilos (GRIFFITHS et al., 1988; DE YOUNG, 1989; MURAKAWA et al., 2006).

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima encontrada nos neutrófilos, que é comumente usada como um índice da infiltração de granulócitos, e sua inibição um indicativo de atividade antiinflamatória (FUJII et al., 2002). Portanto, na tentativa de caracterizar o potencial antiinflamatório tópico dos diterpenos em investigação,

avaliamos seus efeitos no edema inflamatório induzido por TPA assim como no aumento associado dos níveis de  $\text{TNF}\alpha$  e MPO na orelha de camundongos, além da análise histológica.

Os resultados mostram que os diterpenos, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, são efetivos, por via tópica e por via oral, em atenuar a dermatite irritativa inflamatória induzida pelo TPA. Ambos os compostos, nas doses testadas, promoveram supressão dose dependente do edema, da migração de leucócitos polimorfonucleares (MPO), e do aumento nos níveis teciduais de  $\text{TNF}\alpha$ , assim como observado com a dexametasona, droga antiinflamatória de referência.

E possível que o mecanismo de ação dos diterpenos possa ser explicado através da inibição da atividade da ciclooxigenase. Os neutrófilos exercem um papel crucial nas doenças inflamatórias cutâneas, como na dermatite, a presença destes na lesão está relacionado ao mecanismo fisiopatológico da doença (BRADLEY et al., 1982; KATZ; STROBER, 1978). Estudos mostram que o acúmulo de leucócitos na pele induzido pelo TPA é necessário para a progressão da reação inflamatória assim como para o aumento da expressão da enzima ciclooxigenase-2 (SANCHEZ; MORENO, 1999; OTUKI et al., 2005). Portanto, a marcada inibição promovida pelo ácido centipédico e pela lactona do ácido hawtriwaico (LAH) em resposta a aplicação tópica de TPA pode estar relacionada à habilidade de suprimir a migração de neutrófilos. A análise histológica dos tecidos das orelhas mostrou que a aplicação tópica do TPA resultou em um aumento da espessura da pele, edema e infiltrado de células inflamatórias e que os diterpenos e a dexametasona inibiram os parâmetros observados.

O TPA aumenta a expressão de mediadores pró-inflamatórios como  $\text{IL-1}\alpha$ , GM-CSF, COX-2 e  $\text{TNF-}\alpha$  (OBERYSZYN et al., 1993; VASUNIA et al., 1994; WILMER et al., 1994; SCHOLZ et al., 1995). A  $\text{IL-1}$  e o  $\text{TNF-}\alpha$  são citocinas capazes de ativarem mecanismos efetores para diferentes alvos da inflamação cutânea (KUPPER, 1990; CORSINI; GALLI, 2000). Vários modelos experimentais, que fazem uso de uma variedade de irritantes, provocam a liberação de  $\text{TNF-}\alpha$  (WILME et al., 1994; HUNZIKER et al., 1992; ENK; KATZ, 1992; LISBY et al., 1995). O  $\text{TNF-}\alpha$  foi

descrito por Piquet e col (1991) como um mediador crítico das reações de irritação da pele.

O TNF- $\alpha$  é uma importante citocina liberada na dermatite de contato irritativa (McFADDEN; BASKETTER, 2000). Lewis e col (1993) demonstraram que esta citocina é liberada pelos queratinócitos *in vitro* em resposta a irritantes e que também pode ser liberada pelos queratinócitos em resposta aos lipopolissacarídeos (KOCK et al., 1990), sendo uma citocina pró-inflamatória que ativa as células T, macrófagos e granulócitos, induzindo a expressão alterada de moléculas de adesão e liberação de outras citocinas (GROVES et al., 1995). No presente estudo os diterpenos, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, são efetivos, por via tópica, em reduzir os níveis teciduais de TNF $\alpha$  e com isso reduzir a resposta inflamatória induzida pelo TPA. Alguns compostos terpênicos já foram descritos com atividade inibidora sobre o TNF $\alpha$  como os sesquiterpenos *alpha-humulene* e *trans-caryophyllene* (FERNANDES et al., 2007) ou os triterpenos ácidos isolados da *Eriobotrya japonica* (HUANG et al., 2007).

O TPA ativa a proteína quinase C (PKC) e sugere-se que a PKC $\alpha$  tenha papel na diferenciação dos queratinócitos e na promoção do tumor induzido pelo TPA (ASHENDEL et al., 1983, BLUMBERG, 1988). Também foi demonstrado que a PKC $\alpha$  tenha uma importante função nos queratinócitos da epiderme, que é a de regular a expressão de mediadores inflamatórios que produzem edema e infiltração neutrofílica (WANG; SMART, 1999). Os efeitos da ativação da PKC no sistema vascular incluem aumento na permeabilidade, ativação das células endoteliais, alterações no fluxo sanguíneo, adesão dos leucócitos e aumento na sinalização dos fatores de crescimento (ÍDRIS; DONNELLT, 2006). Apesar de já ter sido demonstrada a ação inibidora de terpenos sobre a PKC, como por exemplo, a  $\alpha$ -amirina (MEDEIROS et al., 2007) e a mistura de triterpenos pentacíclicos cicloeuclalenol e cicloartenol, isolados da *Herissanthia tiubae* (GOMES et al., 2005), no nosso trabalho não podemos inferir que a ação dos diterpenos em questão se deva a uma inibição da PKC, estudos posteriores são necessários para determinar esta atividade.

A dermatite de contato é uma resposta biológica da pele que pode ser induzida por uma variedade de irritantes e/ou alérgenos influenciados por condições ambientais (BÁNVÖLGYI et al., 2005). Um grande número de drogas terapêuticas de origem natural ou sintética pode causar dermatite de contato após uso tópico ou sistêmico (Gette et al., 1992; RUTHERFORD, 2007; SEVERS et al., 2007; SUN et al., 2007; ASENSIO et al., 2008; PAULSEN; CHISTENSEN, 2008; UENO; KAWANA, 2008).

Algumas plantas medicinais, que são conhecidas por produzir reações alérgicas, também são utilizadas como agentes antiinflamatórios. Espécies com flavonóides, iridóides, terpenóides e alcalóides são descritos como inibidores da dermatite de contato. *Scrophularia auriculata*, *Poria cocos*, *Santolina chamaecyparissus*, *Ranunculus sceleratus* e *Helichrysum italicum* demonstraram atividade em diferentes protocolos experimentais de dermatite de contato, justificando o uso potencial destas plantas medicinais como antialérgicos e inibidores da dermatite de contato. Derivados da hidroquinona como *1-O-glucopyranosyl-2-(3'-hydroxymethyl-3'-methylallyl)* hiroquinona e *arbutin*, flavonóides como campferol, apigenina e genisteina, lactonas sesquiterpênicas como *helenalin*, diterpenos como *triptonide*, alcalóides como *indirubin*, *dehydrocorydaline*, *magnoflorine* e *phellodendrine acetate*, e polissacarídeos como *fucoidin* são relatados como inibidores de dermatite de contato (RIOS et al., 2005).

A dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona consiste em um modelo de inflamação, crônica, facilmente reproduzível, sendo considerado como um modelo que simula a psoríase humana e drogas que atenuam os efeitos da oxazolona podem ser úteis em desordens da pele como a dermatite alérgica e a psoríase (FUJII et al., 2002). A aplicação repetida de oxazolona na orelha de camundongos aumenta os níveis de citocinas Th1 e Th2 na pele lesionada e uma exposição mais contínua à oxazolona leva a uma predominância das citocinas Th2 (KITAGAKI et al., 1997; TAMURA et al., 2004). Citocinas Th1 e Th2 estão presentes na pele lesionada de pacientes com dermatite atópica (KAY et al., 1991; HERZ et al., 1998; AKDIS et al., 2000). A citocina Th2, IL-4, afeta um espectro de diferentes tipos celulares incluindo células T, células B, mastócitos, monócitos/macrófagos, células endoteliais, fibroblastos, células dendríticas, células de Langerhans e queratinócitos,

regulando a resposta imune (RICCI et al., 1997; ELBE-BURGER et al., 2002; TAMURA et al., 2004). Do outro lado, a citocina Th1, INF- $\gamma$ , é importante para o desenvolvimento da hipertrofia da pele devido ao aumento da proliferação dos queratinócitos (CORROL et al., 1997; KIMURA et al., 2004; FUJII et al., 2002; TAMURA et al., 2004).

O modelo de dermatite induzido por oxazolona descrito por FUJII et al (2002), possui como principal característica, a hiperplasia da epiderme, devido ao aumento na proliferação dos queratinócitos onde o INF- $\gamma$  possui importância crucial. Além de edema persistente e infiltrado marcante de células inflamatórias como monócitos, granulócitos e macrófagos.

O modelo de edema de orelha é utilizado não somente para identificar potenciais agentes antialérgicos baseados na capacidade de redução do espessamento da orelha de animais sensibilizados, mas também compromete-se a um subsequente estudo sobre o potencial profilático desses agentes (KIMBER et al., 1999). A inibição desta reação dérmica pode ser expressa como uma redução no edema ou espessura da orelha quando comparado ao grupo controle.

No presente estudo a oxazolona aplicada a animais sensibilizados induziu um aumento na espessura da orelha que atingiu um nível máximo 19 dias após a sensibilização. A aplicação tópica de ácido centipédico e LAH suprimiu marcadamente o aumento na espessura da orelha e hiperplasia epidérmica, assim como o aumento nos níveis de INF- $\gamma$ , induzidos pela oxazolona. Não foi observada uma relação direta entre os níveis de INF- $\gamma$  e a redução da hiperplasia epidérmica da orelha pelos diterpenos, o que pode ser facilmente explicado pela variedade de fatores que estão envolvidos na hiperplasia da epiderme como a interleucina-6 e o TGF- $\alpha$  assim como a própria resposta da pele que aumentam a expressão dos receptores desses fatores de crescimento (KRUEGER et al., 1990).

Neste contexto, um estudo prévio descreveu a atividade antiproliferativa da LAH sobre o crescimento de uma linhagem de células humanas, CCD922, fibroblastos normais (PESSOA et al., 2000).

Várias classes de drogas como antagonistas da bradicina, antihistamínicos e antiserotoninérgicos, antiinflamatórios esteroidais e não esteroidais, e antagonistas vanilóides como capzasepina e vermelho de rutênio podem modular o edema de orelha dependendo da natureza do agente edematogênico (MANTIONE; RODRIGUEZ, 1990; GABO; RAZGA, 1992; STERNER; SZALLASI, 1999). Plantas e substâncias isoladas de plantas também apresentam importância na dermatologia por seus efeitos tanto adversos como benéficos na pele e em suas desordens (MANTLE et al., 2001). Entre os produtos naturais derivados de plantas, os grupos mais efetivos com propriedades inibitórias na dermatite de contato são os agentes fenólicos e os terpenos. Muitos desses compostos agem por mecanismos não específicos (ex. antioxidante), mas podem também agir por vias específicas como a inibição de mediadores implicados na resposta imune.

Estudos estabeleceram a atividade antiinflamatória de alguns compostos diterpênicos como *suaveolol* e *methyl suaveolate* de *Hyptis suaveolens* na dermatite induzida por óleo de *Croton* na orelha de camundongos, *triptonide* de *Trypterigyum wilfordii* contra a dermatite induzida por DNFB na pele de camundongos, e *andalusol* de *Sideritis foetens* por mecanismos que envolvem a supressão de células T, inibição da produção de citocinas e/ou inativação do NF- $\kappa$ B (GRASSI et al., 2006; PEIE et al., 1993; DE LÃS HERAS et al. 1999).

Melo et al. (2006) demonstraram que o diterpeno lactona do ácido hawtriwaico (LAH) suprime o edema de orelha induzido por capsaicina em camundongos, um modelo válido para selecionar compostos com potencial antialérgico e antiinflamatório tópico. Contudo LAH não demonstrou atividade no edema de pata induzido por Composto 48/80, histamina ou serotonina mas efetivamente reduziu o edema de pata induzido por sustância P assim como o aumento de permeabilidade vascular induzido pela administração intraperitoneal de ácido acético em camundongos (MELO et al., 2006). O que sugere que a LAH exerce atividade antiinflamatória sobre o edema tópico induzido por capsaicina através de uma ação independente da estabilização de mastócitos ou antagonismo de histamina ou serotonina, mas que é capaz de reduzir o edema de pata induzido pela substância P.

Bánvölgyi e col (2005) demonstraram que a substância P e o CGRP endógenos exercem um papel pró-inflamatório no modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona em camundongos. Desde que a LAH foi capaz de reduzir o edema de pata induzido pela substância P em camundongos, esta pode estar exercendo ação antiinflamatória no modelo da oxazolona por um bloqueio nos receptores e/ou na liberação da substância P.

A administração tópica de ácido centipédico e LAH inibiu o aumento de espessura da orelha induzido pela aplicação repetida de oxazolona, sugerindo que estes diterpenos possam vir a ser úteis no tratamento da dermatite de contato alérgica.

Vários inibidores específicos de citocinas e quimiocinas estão sendo desenvolvidos como terapia para um grande número de doenças inflamatórias e auto-imunes. Estas terapias, no entanto, se focam demasiadamente em um único mediador. Como existem vários mediadores envolvidos nas reações inflamatórias ou mesmo auto-imunes, os terpenos podem ser uma boa opção terapêutica a ser estudada uma vez que estes são capazes de inibir uma variedade de citocinas e/ou mediadores inflamatórios, o que os tornam compostos importantes na pesquisa farmacológica.

Este estudo mostra que os diterpenos, ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, possuem uma atividade antiinflamatória e imunomodulatória, mais evidente quando utilizados topicamente, tanto na dermatite de contato irritativa induzida por TPA quanto na dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona, que os tornam futuras fonte de pesquisa, para à investigação de seu(s) mecanismo(s) de ação assim como para uma possível utilização no tratamento de dermatites.

## 8. CONCLUSÕES

Os dados obtidos da presente investigação com os diterpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico nos permite concluir que:

- ❖ Este estudo mostra a primeira evidência da eficácia da aplicação tópica de ácido centipédico e de lactona do ácido hawtriwaico (LAH) em modelos murinos de dermatite induzida por TPA ou oxazolona.
- ❖ A administração oral de doses de 500, 1000 e 2000 mg/kg do ácido centipédico (AC) não produziu alterações comportamentais ou alterações nos padrões fisiológicos de evacuação e micção.
- ❖ O ácido centipédico e a LAH demonstraram pronunciada atividade antiinflamatória na dermatite de contato irritativa induzida por TPA, cujo mecanismo de ação envolve possivelmente a inibição da ciclooxigenase, da migração de neutrófilos e a redução nos níveis teciduais de TNF- $\alpha$ , além de melhorarem as modificações histológicas observadas induzidas pela aplicação do TPA.
- ❖ No modelo de dermatite de contato alérgica induzida por oxazolona, o ácido centipédico e a LAH, administrados por via tópica e por via oral, apresentaram atividade antiinflamatória pronunciada evidenciada pela redução da hiperplasia epidérmica e dos níveis teciduais de INF- $\gamma$ , além da melhora nos parâmetros histológicos analisados.
- ❖ Este estudo fornece evidências de que os diterpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico, isolados da *Egletes viscosa*, possam no futuro serem utilizados terapêuticamente em distúrbios inflamatórios da pele como as dermatites de contato e psoríase.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADAMSON, G.M.; BILLINGS, R.E. Tumor necrosis factor induced oxidative stress in isolated mouse hepatocytes. **Arch Biochem Biophys**; v. 294, p. 223-229, 1992.

AGNER, T.; SERUP, J. Seasonal variation of skin resistance to irritants. **Br J Dermatol**, v. 21, p. 323-328, 1989.

AHMAD, V.U.; HUSSAIN, H.; BURKHARI, I.A.; HUSSAIN, J.; JASSBI, A.R.; DAR, A. Antinociceptive diterpene from *Euphorbia decipiens*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 230-232, 2005.

ALI, S. A. Dermatoses ocupacionais. São Paulo: **FUNDACENTRO**,1997.

ALIEV, G.; BURNSTOCK, G. Watanabe rabbits with heritable hypercholesterolaemia: a model of atherosclerosis. *Histol Histopathol*, V. 13, P. 797-817, 1998.

AMMON, H.P.T.; KAUL, R. Pharmakologie der Kamille und ihrer Inhaltsstoffe. **Dtsch Apoth Ztg**, V. 132(suppl 27), P. 3-26, 1992.

ANTTILA H, S.; REITAMO, S.; ERKKO, P.; CESKA, M.; MOSER, B.; BAGGIOLINI, M. Interleukin-8 immunoreactivity in the skin of healthy subjects and patients with palmoplantar pustulosis and psoriasis. **J Invest Dermatol**, v. 98, p. 96–101, 1992.

ASENSIO T, SANCHÍS ME, SÁNCHEZ P, VEGA JM, GARCÍA JC. Photocontact dermatitis because of oral dexketoprofen. **Contact Dermatitis**. v.58, n. 1, p.59-60, 2008.

ASHENDEL, C.L.; STALLER, J.M.; BOUTWELL, R.K. Protein kinase activity associated with a phorbol ester receptor purified from mouse brain. **Cancer Rev**, v. 43, p. 4333-4337, 1983.

ASHTON, H.; FRENK, E.; STEVENSON, C. Therapeutics: XIII. Urea as a topical agent. **Br J Dermatol**, v. 84, p. 194–196, 1971.

ASHWELL, J.D.; LU, F.W.; VACCHIO, M.S. Glucocorticoids in T cell development and function. **Annu Rev Immunol**, v. 18, p. 309–345, 2000.

ASTNER, S.; GONZALEZ, E.; CHEUNG, A.C.; RIUS-DIAZ, F.; DOUKAS, A.G.; WILLIAM, F.; GONZALEZ, S. Non-invasive evaluation of the kinetics of allergic and irritant contact dermatitis. **J Invest Dermatol**, v. 124, p. 351–359, 2005.

AUSTEN, K.F.; FREEDBERG, I.M.; WOLFF, K.; EISEN, A.Z.; FITZPATRICK, T.P. **Dermatology in general medicine**. Fourth edition, vol.I,chapter 12: the epidermis: an immunologic microenvironment, 1993.

BÁNVÖLGYI, A.; PÁLINKÁS, L.; BERKI, T.; CLARK, N.; GRANT, A.D.; HELYES, Z.; POZSGAI, G.; SZOLCSÁNYI, J.; BRAIN, S.D.; PINTÉR, E. Evidence for a novel protective role of the vanilloid TRPV1 receptor in a cutaneous contact allergic dermatitis model. **Journal of Neuroimmunology**. v. 169, n. 1-2, p. 86-96, 2005.

BARNES, P.J.; KARIN, M. Nuclear factor- $\kappa$ B - a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. **N Engl J Med**, v. 336, p. 1066-1071, 1997.

BÄUMER, W.; HOPPMANN, J.; RUNDFELDT, C.; KIETZMANN, M. Highly selective phosphodiesterase 4 inhibitors for the treatment of allergic skin diseases and psoriasis. **Inflamm Allergy Drug Targets**. v. 6(1), p. 17-26, 2007.

BAZAN, E.; CAMPBELL, A.K.; RAPOPORT, R.M. Effects of protein kinase C activation on norepinephrine-induced phosphatidylinositide hydrolysis in intact rat aorta. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 245(2), p. 173-177, 1993.

BELSITO, D.V. The diagnostic evaluation, treatment, and prevention of allergic contact dermatitis in the new millennium. **J Allergy Clin Immunol.**, v. 105, p. 409-420, 2000.

BEG, A.A.; SHA, W.C.; BRONSON, R.T.; BALTIMORE, D. Constitutive NF- $\kappa$ B activation, enhanced granulopoiesis, and neonatal lethality in I $\kappa$ B $\alpha$ -deficient mice. **Genes Dev**, v. 9, p. 2736, 1995.

BELL, S.; DEGITZ, K.; QUIRLING, M.; JILG, N.; PAGE, S.; BRAND, K. Involvement of NF-kappaB signalling in skin physiology and disease. **Cell Signal**, v. 15, p. 1–7, 2003.

BERARDESCA, E.; DISTANTE, F. The modulation of skin irritation. **Contact Dermatitis**, v. 31, p. 251-257, 1994.

BERARDESCA, E.; MAIBACH, H.L. Racial differences in sodium lauryl sulphate induced cutaneous irritation: black and white. **Contact Dermatitis**, v. 18, p. 65-70, 1988.

BICKERS, D.R.; LIM, H.W.; MARGOLIS, D.; WEINSTOCK, M.A.; ABRAMS, B.B.; GOODMAN, C.; et al. The burden of skin diseases:2004. A joint project of the American Academy of Dermatology Association and the Society for Investigative Dermatology. **J Am. Acad. Dermatol**, v. 55, p. 490- 500, 2006.

BINGEFORS, K.; LINDBERG, M.; ISACSON, D. Self-reported dermatological problems and use of prescribed topical drugs correlate with decreased quality of life: an epidemiological survey. **Br J Dermatol.**, v. 147, p. 285-90, 2002.

BLICHMANN, C.; SERUP, J.; WINTHER, A. Effects of single application of a moisturizer: evaporation of emulsion water, skin surface temperature, electrical conductance, electrical capacitance, and skin surface (emulsion) lipids. **Acta Derm-Venereol.**, v. 69 p. 327– 330, 1989.

BLUMBERG, P.M. Protein kinase c as the receptor for the phorbol ester tumor promoter: sixth rhoads memorial award lecture. **Cancer Res.** v. 48, p. 1-8, 1988.

BOGDAN, C. The multiplex function of nitric oxide in (auto)immunity. **J Exp Med.**, v. 187, p. 1361-1365, 1998.

BONISH, B.; JULLIEN, D.; DUTRONC, Y.; HUANG, B.B.; MODLIN, R.; SPADA, F.M.; PORCELLI, S.A.; NICKOLOFF, B.J. Overexpression of cd1d by keratinocytes in psoriasis and cd1d – dependent inf –  $\gamma$  production by nk-t cells. **J.Immunol.**, v. 165, p. 4076 – 4085, 2000.

BORNHÖVD, E.; BURGDORF, W.H.; WOLLENBERG, A. Macrolactam immunomodulators for topical treatment of inflammatory skin diseases. **J Am Acad Dermatol.**, v. 45, p. 736–743, 2001.

BOS, J.D. Skin as an organ of immunity. **Clin Exp Immunol.** v. 107, Suppl 1, p. 3-5, 1997.

BOS, J.D.; WIERENGA, E.A.; SILLEVIS, J.H.; SMITT, F.L.; VAN DER HEIJDEN AND M.L. KAPSENBERG, M.L. Immune dysregulation in atopic eczema, **Arch. Dermatol.**; v. 128, p. 1509–1512, 1992.

BOS, J.D.; KAPSENBERG, M.L. The skin immune system: progress in cutaneous biology. **Immunol Today**, v. 14, p. 75-8, 1993.

BOXMAN, I.L.; RUWHOF, C.; BOERMAN, O.C.; LOWIK, C.W.; PONEC, M. Role of fibroblasts in the regulation of proinflammatory interleukin IL-1, IL-6 and IL-8 levels induced by keratinocyte- derived IL-1. **Arch Dermatol Res**, v. 288, p. 391–398, 1996.

BRADLEY P.P.; PRIEBAT, D.A.; CHRISTENSEN, R.D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **J. Invest. Dermatol.**, v. 78, p. 206–209, 1982.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. **Centro de divulgação Universitária**, Fortaleza, 1960.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. 3<sup>a</sup> ed. Fortaleza: **Imprensa Oficial**, p.320, 1976.

BREUER K., WERFEL T., KAPP A. Safety and efficacy of topical calcineurin inhibitors in the treatment of childhood atopic dermatitis. **Am. J. Clin. Dermatol.**; v. 6, p. 65-77, 2005.

BRUCH-GERHARZ, D.; RUZICKA, T.; KOLB-BACHOFEN, V. Nitric oxide in human skin: current status and future prospects. **J Invest Dermatol**; v. 110, p. 1-7, 1998.

BUSSOLINO, F.; WANG, JM.; DEFILIPPI, P.; TURRINI, F.; SANAVIO, F.; EDGELL, CJ.; AGLIETTA, M.; ARESE, P.; MANTOVANI, A. Granulocyte and granulocyte-macrophage-colony stimulation factors induce human endothelial cells to migrate and proliferate. **Nature**, v. 337, p. 471, 1989.

BURKHART, C.G.; BURKHART, H.R. Contact irritant dermatitis and anti-pruritic agents: the need to address the itch. **J Drugs Dermatol.**, v. 2(2), p. 143-146, 2003.

BUYS L.M. Treatment options for atopic dermatitis. **Am. Fam. Physician.**; v. 75, p.523-528, 2007.

CALIXTO J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131–134, 2005.

CARNESECCHI, S.; BRAS-GONCALVES, R.; BRADAIA, A.; ZEISEL, M.; GOSSE, F.; POUPON, M.F.; RAUL, F. Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. **Cancer Lett**, v. 215, p. 53-59, 2004.

CARVALHO, J.C.T.; SILVA, M.F.C.; MACIEL, M.A.M. Investigation of anti-inflammatory and antinociceptive activities of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. Part 1. **Planta Med.**, v. 62, p. 402-404, 1996.

CHATURVEDI, S.K.; SINGH, G.; GUPTA, N. Stigma experience in skin disorders: an Indian perspective. **Dermatol Clin.**, v. 23, p. 635-642, 2005.

CHERRY, N.; MEYER, J.D.; ADISESH, A.; et al. Surveillance of occupational skin disease: EPIDERM and OPRA. **Br J Dermatol.**, v. 142, p. 1128-1134, 2000.

CHUANG, D.M. Neurotransmitter receptors and phosphoinositide turnover. **Annu. Ver. Pharmacol. Toxicol.**, v. 29, p. 71-110, 1989.

CLARDY, J.; WALSH, C. Lessons from natural molecules. **Nature**, v. 432, p. 729–837, 2004.

CLARK, S.C.; KAMEN, R. The human hematopoietic colony-stimulating factors. **Science**, v. 236, p. 1229, 1987.

COHEN, D.E.; HEIDARY, N. Treatment of irritant and allergic contact dermatitis **Dermatologic Therapy**; Vol. 17, p. 334–340, 2004.

COOPMAN, S.A.; JOHNSON, R.A.; PLATT, R.; STERN, R.S. Cutaneous disease and drug reactions in HIV infection. **N Engl J Med**; v.328, p.1670-1674, 1993.

CORSINI, E.; GALLI, C.L. Cytokines and irritant contact dermatitis. **Toxicol Lett.**; v. 28, p.102-103, p.277-282, 1998.

CORSINI, E.; GALLI, C.L. Epidermal cytokines in experimental contact dermatitis. **Toxicology**; v. 142, p. 203–211, 2000.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, N.J.; WEISS, R.B. Coral reefs, forests, and thermal vents: the worldwide exploration of nature for novel antitumor agents. **Semin Oncol.** V.24, n. 2, p.156-63, 1997.

DALGARD, F.; SVENSSON, A.; HOLM, J.O.; SUNDBY, J. Self-reported skin morbidity among adults: associations with quality of life and general health in a Norwegian survey. **J Invest Dermatol Symp Proc.**; v.9, p. 120-125, 2004.

DALY, J.W.; PADGETT, W.; SEAMON, K.B. Activation of cyclic AMP-generating systems in brain membranes and slices by the diterpene forskolin: augmentation of receptor-mediated responses. **J. Neurochem**; v. 38, n. 2, p. 532-544, 1981.

DARSHAN, S.; DORESWAMY, R. Patented antiinflammatory plant drug development from traditional medicine. **Phytother res**; v. 18, n. 5, p.343-357, 2004.

DA SILVA, S.L.; FIGUEIREDO, P.M.; YANO, T. Chemotherapeutic potential of the volatile oils from *Zanthoxylum rhoifolium* Lam leaves. **Eur J Pharmacol.**; v. 3, 2007.

DATTNER, A.M. Herbal and complementary medicine in dermatology. **Dermatol Clin**; v. 22, n. 3, p.325-332, 2004.

DE PASQUALE, A. Pharmacognosy: the oldest modern science. **J Ethnopharmacolgy**; v.11, p.1 – 16, 1984.

DE YOUNG, L.M.; KHEIFETS, J.B.; BALLARON, S.J.; YOUNG, J.M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents Actions**; v.26, p.335-341, 1989.

DINARELLO, C.A. Role of pro- and anti-inflammatory cytokines during inflammation: experimental and clinical findings. **J Biol Regul Homeost Agents**; v.11, p. 91-103, 1997.

DI STASI, L.C.; HIRUIMA, C.A.; SANTOS, E.M.G.; *et al.* Medicinal Plants popularly used in Brazilian Amazon. **Fitoterapia**; v. 65, n. 6, p 529-540, 1994.

DO AMARAL, J.F.; SILVA, M.I.; NETO, M.R.; NETO, P.F.; MOURA, B.A.; DE MELO, C.T.; DE ARAUJO, F.L.; DE SOUSA, D.P.; DE VASCONCELOS, P.F.; DE VASCONCELOS, S.M.; DE SOUSA, F.C. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. **Biol Pharm Bull**; v. 30, n. 7, p.1217-1220, 2007.

DOGRA, A.; MINOCHA, Y.C.; KAUR, S. Adverse reactions to cosmetics. **Indian J Dermatol leprol.**; v. 69, n. 2, p. 165-167, 2003.

DO VALE, T.G.; FURTADO, E.C.; SANTOS, J.G.; J.R., VIANA, G.S. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) n.e. Brown. **Phytomedicine**; v. 9, p. 709-714, 2002.

DUARTE, D.F.; SANTANA, A.E.; CALIXTO, J.B. Analyses of the vasorelaxant action of jatrophone in the isolated aorta of the rat: influence of potassium channel blockers. **Eur. J. Pharmacol**; v. 215, p. 75-81, 1992.

DUARTE, I.; LAZZARINI, R.; BUENSE, R.; PIRES, M.C. Dermatite de contato. **An bras Dermatol**; v.75(5), p. 529-548, 2000.

DUBEY, M.P.; SRIMAL, R.C.; PATANAİK, G.K.; DHAVAN, B.N. Hypotensive and spasmolytic activities of coleonol, active principle of *Coleus forsholii* Briq. **Ind. J. Pharmacol**; p. 6-15, 1974.

DUMONT, F.; STARUCH, M.; KOPRAK, S.; et al. Distinct mechanisms of suppression of murine T cell activation by the related macrolides FK 506 and rapamucin. **J Immunol**; v. 144, p. 251– 258, 1990.

DZEROSKI, S.; SCHULZE-KREMER, S.; HEIDTKE, K.; SIEMS, K.; WETTSCHERECK, D.; BLOCKEEL, H. Diterpene structure elucidation from <sup>13</sup>C NMR spectra with inductive logic programming, applied artificial intelligence; v. 12, p. 363-384, 1998.

EICHMANN, A.; AMGWERD, D. Toxische kontaktdermatitis. **Schweiz Rundsch Med/Prax**; v. 19, p. 615– 617, 1992.

ELIAS, P.M.; CULLANDER, C.; MAURO, T.; RASSNER, U.; KOMUVES; BROWN, B.E.; MENON, G.K. The secretory granular cell: the outermost granular cell as a specialized secretory cell. **J Invest Dermatol. Symp. Proc.**; v. 3, n. 2, p. 87- 100, 1998.



ELIAS, P.M.; FEINGOLD, K.R. Does the tail wag the dog? Role of the barrier in the pathogenesis of inflammatory dermatoses and therapeutic implications. **Arch Dermatol**; v. 137, p. 1079-1081, 2001.

ELIZABETZKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, MO et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3a. ed. Porto Alegre: Ed. da UFSC, 2001.

ENGLISH, JSC. Current concepts in contact dermatitis. **Br J Dermatol**; v. 145, p. 527–529, 2001.

ENGLISH, J.S.C. Current concepts of irritant contact dermatitis *Occup. Environ. Med.*; v.61; p. 722-726, 2004.

ENK, A.H.; KATZ, S.I. Early molecular events in the induction phase of contact sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA*; v. 89, p. 1398–1402, 1992.

EVANS, F.J.; SOPER, C.J. The tiglane, daphnanes and ingenanes; their chemistry, distribution and biological activities: A review. **Lloydia**; v. 41, p. 193, 1978.

EVANS, F.J.; SCHMIDT, R.J. An assay procedure for the comparative irritancy testing of esters in the tiglane and daphnane series. **Inflammation**; v. 3, p. 215, 1979.

FARTASCH, M. Ultrastructure of the epidermal barrier after irritation. **Microsc Res Tech**; v. 37; p. 193–199, 1997.

FEINGOLD, K.R.; ELIAS, P.M. The Environmental interface: regulation of permeability barrier homeostasis. In: Loden & H.I. Mailbach Eds. Dry skin and moisturizers: Chemistry and function. **Boca raton**; p. 45-58, 2000.

FERNANDES ES, PASSOS GF, MEDEIROS R, DA CUNHA FM, FERREIRA J, CAMPOS MM, PIANOWSKI LF, CALIXTO JB. Anti-inflammatory effects of

compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **Eur J Pharmacol.** v. 569, n. 3, p. 228-36, 2007.

FERNÁNDEZ, M.A.; TORNOS, M.P.; GARCÍA, M.D.; DE LAS HERAS, B.; VILLAR, A.M.; SÁENZ, M.T. Anti-inflammatory activity of abietic acid, a diterpene isolated from *Pimenta racemosa* var. *grisea*. **J. Pharm. Pharmacol.**; v. 53, p. 867-872, 2001.

FUCHS, J.; ZOLLNER, T.M.; KAUFMANN, R.; PODDA, M. Redox-modulated pathways in inflammatory skin diseases. **Free Radic Biol Med**; v.30, p. 337- 353, 2001.

FUJII, Y.; TAKEUCHI, H.; TANAKA, K.; SAKUMA, S.; OHKUBO, Y.; MUTHO, S. Effects of FK – 506 (Tacrolimus Hydrate) on chronic oxazolone induced dermatitis in rats. **Eur J Pharmacol**; v. 456, p. 115-121, 2002.

FUNK, J.O.; MAIBACH, H.I. Horizons in pharmacologic interventions in allergic contact dermatitis. **J Am Acad Dermatol.**; v. 31, n. 6, p. 999-1024, 1994.

FURSTENBERGER, G. Role of eicosanoids in mammalian skin epidermis. **Cell Biol. Rev.** ; v. 24, p. 1-111, 1990.

GABOR, M.; RAZGA, Z. Development and inhibition of mouse ear oedema induced with capsaicin **Agents Actions.** v. 36 p. 83-86, 1992.

GARASIC, J.M.; CREAGER, M.A. Percutaneous interventions for lower-extremity peripheral atherosclerotic disease. **Rev Cardiovasc Med**; v. 2, p.120-125.

GATES T. Atopic dermatitis: diagnosis, treatment, and aeromedical implications. **Aviat. Space Environ. Med.**; v. 78, p. 29-37, 2007.

GETTE, M.T.; MARKS, J.G .JR.; MALONEY, M.E. Frequency of postoperative allergic contact dermatitis to topical antibiotics. **Arch Dermatol.**; v.12, n. 3, p.365-367, 1992

GHADIALLY, R.; HALKIER-SORENSEN, L.; ELIAS, P. Effects of petrolatum on stratum corneum structure and function. **J Am Acad Dermatol**; v. 26, p. 387– 396, 1992.

GIRAL, F. **Produtos químicos e farmacêuticos**, 3º volume. Editora Atribute, 1956.

GOMES AY, DE FÁTIMA SOUZA M, CORTES SF, LEMOS VS. Mechanism involved in the spasmolytic effect of a mixture of two triterpenes, cycloartenol and cycloeucalenol, isolated from *Herissanthia tiubae* in the guinea-pig ileum. **Planta Med.**; v.71, n. 11, p.1025-1029, 2005.

GORDON, J.R.; GALLI, S.J. Mast cells as a source of both preformed and immunologically inducible TNF alpha/cachectin. **Nature**. V. 346, n. 6281, p. 274-6, 1990.

GRABBE, S.; STEINERT, M.; MAHNKE, K.; SCHWARTZ, A.; LUGER, T.A.; SCHWARZ, T. Dissection of antigenic and irritative effects of epicutaneously applied haptens in mice: evidence that not the antigenic component but nonspecific proinflammatory effects of haptens determine the concentration-dependent elicitation of allergic contact dermatitis. **J Clin Invest**; v. 98, p. 1158-1164, 1996.

GRABBE, S.; SCHWARZ, T. Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. **Immunol Today**; v. 19, p. 37-44, 1998.

GREENSTEIN, A.J.; JANOWITZ, H.D.; SACHAR, D.B. The extra-intestinal complications of Crohn's disease and ulcerative colitis: a study of 700 patients. **Medicine (Baltimore)**; v. 55, p. 401-412, 1976.

GRIFFITHS, R.J.; WOODS, B.E.; LI, S.; BLACKHAM, A. Pharmacological modification of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate induced inflammation and epidermal cell proliferation in mouse skin. **Agents Actions**; v. 25, p. 344-351, 1988.

GRIFFITHS, C.E.; ESMANN, J.; FISHER, G.J.; VOORHEES, J.J.; NICKOLOFF, B.J. Differential modulation of keratinocyte intercellular adhesion molecule-1 by gamma interferon and phorbol ester: evidence for involvement of protein kinase c signal transduction. **Br J Dermatol** ; v. 12, p. 333-342, 1990.

GROOPMAN, J.E.; MOLINA, J.M.; SCADDEN, D.T. Hematopoietic growth factors. Biology and clinical applications. **N Engl J méd**; v. 321, p. 1449. , 1989.

GROSSMAN, RM.; KRUEGER, J.; YOURISH, D.; GRANELLI-PIPERNO, A.; MURPHY, D.P.; MAY, L.T.; KUPPER, T.S.; SEHGAL, P.B.; GOTTLIEB, A.B. Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes. **Pro Natl Acad Sci USA**; v. 86, n. 16, p. 6367-6371, 1989.

GROVES, R.W.; ALLEN, M.H.; ROS, E.L.; BARKER, J.N.; MACDONALD, D.M. Tumour necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. **Br J Dermatol** ; v. 132, p. 345– 352, 1995.

GRUBAUER, G.; ELIAS, P.M.; FEINGOLD, K.R. Transepidermal water loss: the signal for recovery of barrier structure and function. **Lipid Res**; v. 30, p. 323-333, 1989.

GUEDES, M.M.; CUNHA, A.N.; SILVEIRA, E.R.; RAO, V.S. Antinociceptive and gastroprotective effects of diterpenes from the flower buds of *Egletes viscosae*. **Planta Med.**; v. 68, n. 11, p. 1044-1046, 2002.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. **Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine**, v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HANCOCK, G.E.; KAPLAN, G.; COHN, Z.A. Keratinocytes growth regulation by the products of immune cells. **J Exp Med**; v. 168, p. 1395, 1988.

HECK, D.E.; LASKIN, D.L.; GARDNER, C.R.; LASKIN, J.D. Epidermal growth factor suppresses nitric oxide and hydrogen peroxide production by keratinocytes. Potential role for nitric oxide in the regulation of wound healing. **J Biol Chem**; v. 267, p. 21277-21280, 1992.

HEILMANN, J.; MERFORT, I.; HAGERDORN, U.; LIPPOLD, B.C. In vivo skin penetration studies of chamomile flavonoids. **Planta Med.**; 59 (suppl): A638, 1993.

HEWITT, H.; WHITTLE, S.; LOPEZ, S.; BAILEY, E.; WEAVER, S. Topical use of papaya in chronic skin ulcer therapy in Jamaica. **West Indian Med J.**; v.49, n. 1, p. 32-33, 2000.

HIRUMA-LIMA, C.A.; TOMA, W.; GRACIOSO, J.D.E.S.; DE ALMEIDA, A.B.; BATISTA, L.M.; MAGRI, L.; DE PAULA, A.C.; SOARES, F.R.; NUNES, D.S.; SOUZA BRITO, A.R. Natural trans-crotonin: the antiulcerogenic effect of another diterpene isolated from the bark of *Croton cajucara* Benth. **Biol Pharm Bull**; v. 25, n. 4, p. 452-456, 2002.

HSU, S. Green tea and the skin. **J Am Acad Dermatol**; v. 52, n. 6, p. 1049-1059, 2005.

HUANG, Y.; LI, J.; WANG, .; W.U, Q.; LI, Y.H.; YU, S.C.; CHENG, W.M.; WANG Y.Y. Effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf on inflammatory cytokine and mediator induction from alveolar macrophages of chronic bronchitic rats. **Inflamm Res.** v. 56, n. 2, p.76-82, 2007.

HUNZIKER, T.; BRAND, C.U.; KAPP, A.; WAELTI, E.R.; BRAATHEN, L.R. Increased levels of inflammatory cytokines in human skin lymph from sodium lauryl sulphate-induced contact dermatitis. **Br J Dermatol**; v. 127, p. 254–257, 1992.

HUTCHINGS, C.V.; SHUM, K.W.; GAWKRODGER, D.J. Occupational contact dermatitis has an appreciable impact on quality of life. **Contact Dermatitis**; v. 45, p. 17–20, 2001.

IDRIS, I.; DONNELLY, R. Protein kinase C beta inhibition: a novel therapeutic strategy for diabetic microangiopathy **Diabetes Vasc Dis Res**; v. 3, p. 172-178, 2006.

IWAMOTO, M.; OHTSU, H.; TOKUDA, H.; NISHINO, H.; MATSUNAGA, S.; TANAKA, R. Anti-tumor promoting diterpenes from the stem bark of *Thuja standishii* (Cupressaceae). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**; v 9, p. 1911-1921, 2001.

IZUMI, T.; SAITO, M.; OBATA, A.; ARII, M.; YAMAGUCHI, H.; MATSUYAMA, A. Oral intake of soy isoflavone aglycone improves the aged skin of adult women. **J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)**; v. 53, n. 1, p. 57-62, 2007.

IZQUIERDO, R.; ASTUDILLO, L.; RODRIGUEZ, J.Á.; THEODULOZ, C.; PALENZUELA, J.Á.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Gastroprotective effect and cytotoxicity of labdenamides. **Planta Med**; v. 73, n. 4, p. 310-317, 2007.

JACOBSON, P.B.; KUCHERA, S.L.; METZ, A.; SCHACHTELE, C.; IMRE, K.; SCHRIER, D.J. Anti-inflammatory properties of Go 6850: a selective inhibitor of protein kinase C. **J Pharmacol Exp Ther**; v. 275, p. 995-1002, 1995.

JANOFF, A., KLASSEN A., TROLL, W. Local vascular changes induced by the cocarcinogen, phorbol myristate acetate. **Cancer Res.**; v. 30, p. 2568, 1970.

JIANG, S.J.; ZHOU, X.J.; SUN, G.Q.; ZHANG, Y.; JIANG, S.J.; SUN, G.Q.; ZHANG, Y. Morphological alterations of the stratum corneum lipids induced by sodium lauryl sulfate treatment in hairless mice. **J Dermatol Sci**; v. 32, p. 243–246, 2003.

KANDA, N.; SHIMIZU, T.; TADA, Y.; WATANABE, S. IL-18 enhances IFN-gamma-induced production of CXCL9, CXCL10, and CXCL11 in human keratinocytes. **Eur J Immunol.**; v.37, n. 2, p. 338-350, 2007.

KATZ, S.I.; STROBER, W. The pathogenesis of dermatitis herpetiformis. **J Invest dermatol**; v. 70, p. 63-75, 1978.

KAUFMAN, P.B.; CSEKE, L.J.; WARBER, S.; DUKE, J.A.; BRIELMANN, H.L. Natural Products from Plants, CRC Press, **Boca Raton**, FL, 1999.

KAY, A.B.; YING, S.; VARNEY, V.; GAGA, M.; DURHAM, S.R.; MOQBEL, R.; WARDLAW, A.J.; HAMID, Q. Messenger RNA expression of the cytokine gene cluster, interleukin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, in allergen-induced late-phase cutaneous reactions in atopic subjects, **J. Exp. Med.** v. 173, p. 775–778, 1991.

KIEĆ-SWIERCZYŃSKA M., KRECISZ B., SWIERCZYŃSKA-MACHURA D. Contact allergy to paraphenylenediamine: a 10-year observation held in the Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź. **Australas J. Dermatol.**; v. 48, p. 83-87, 2007.

KIMBER I.; CUMBERBATCH, M.; HUMPHREYS, M.; HOPKINS, S.J. contact hypersensitivity induces plasma interleukin 6. **Int Arch Allergy Appl Immunol**; v. 92, p. 97, 1990.

KIMBER, I.; PICHOWSKI, J.S.; BASKETTER, D.A.; DEARMAN, R.J. Immune responses to contact allergens: novel approaches to hazard evaluation **Toxicol. Lett.**; v. 106, p. 237-246, 1999.

KITAGAKI, H.; ONO, N.; HAYAKAWA, K.; KITAZAWA, T.; WATANABE, K.; SHIOHARA T. Repeated elicitation of contact hypersensitivity induces a shift in cutaneous cytokine milieu from a T helper cell type 1 to a T helper cell type 2 profile. **J Immunol.**; v. 159, n. 5, p. 2484-2491, 1997.

KLEMENT, J. F., N. R. RICE, B. D. CAR, S. J. ABBONDANZO, G. D. POWERS, P. H. BHATT, C. H. CHEN, C. A. ROSEN, C. L. STEWART. I $\kappa$ B $\alpha$  deficiency results in a sustained NF- $\kappa$ B response and severe widespread dermatitis in mice. **Mol. Cell Biol.**; v. 16, p. 2341, 1996.

KLEIN, T.W.; NEWTON, C.A. Therapeutic potential of cannabinoid-based drugs. **Adv Exp Med Biol.**; v. 601, p. 395-413, 2007.

KOCK, A., SCHWARZ, T., KIRNBAUER, R. Human keratinocytes are a source for tumor necrosis factor alpha: Evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin or ultraviolet light. **J. Exp. Med.**; V. 172, p. 1609-1614, 1990.

KOHEN, R.; GATI, I. Skin low molecular weight antioxidants and their role in aging and in oxidative stress. **Toxicology**; v. 148, p. 149-157, 2000.

KOMATSU, H.; KOO, A.; GHADISHAH, E.; ZENG, H.; KUHLENKAMP, J.F.; INOUE, M., GUTH, P.H.; KAPLOWITZ, N. Neutrophil accumulation in ischemic reperfused rat liver: evidence for a role for superoxide free radicals. **Am J Physiol.**; v. 262, n. 4 , p. 669-676, 1992.

KUNTZ D., BRASSFIELD T. Hydration of macromolecules: II. Effects of urea on protein hydration. **Arch Biochem Biophys**; v. 142, p. 660–664, 1971.

KÜPELI, E.; ERDEMOGLU, N.; YESILADA, E.; SENER, B. Antiinflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of *Taxus baccata* L. **Journal of Ethnopharmacology**; v. 89, p. 265-270, 2003.

KUPPER T.S. Immune and inflammatory processes in cutaneous tissues: mechanisms and speculations. *J Clin Invest* 1990;86:1783-1789. **J Clin Invest.**; v. 87, p. 753, 1990.

KUPPER, T.S.; GROVES, R.W. The interleukin-1 axis and cutaneous inflammation. **J Invest Dermatol**; v. 105, p. 62S–66S, 1995.

LACHMAN, Y.; BANERJEE, P.; POULTER, L.W.; et al. Association of immunological changes with clinical efficacy in atopic eczema patients treated with traditional Chinese herbal therapy (Zemaphyte). **Int Arch Allergy Immunol**; v. 109, p. 243-249, 1996.

LAMMINTAUSTA, K.; MAIBACH, H.I.; WILSON, D. Irritant reactivity in males and females. **Contact Dermatitis**; v. 17, p. 276-280, 1988a.



LAMMINTAUSTA, K.; MAIBACH, H.I.; WILSON, D. Susceptibility to cumulative and acute irritant dermatitis. **Contact Dermatitis**; v. 19, p. 84-90, 1988b.

LARRICK, J.W.; MORHENN, V.; CHIANG, Y.L.; SHI, T. Activated Langerhans cells release tumor necrosis factor. **J. Leukocyte. Biol**; v. 45, p. 429-433, 1989.

LARSEN, C.G. Production of IL-8 By human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumor necrosis factor. **Immunology**; v. 68, p. 31, 1989.

LEUNG, D.Y.; BOGUNIEWICZ, M.; HOWELL, M.D.; NOMURA, I.; HAMID, Q.A. New insights into atopic dermatitis. **J. Clin. Invest**; v. 113, p. 651-657, 2004.

LEVEQUE, J.L.; CORCUFF, P.; DE RIGAL, J.; AGACHE, P. In vivo studies of evolution of physical properties of human skin with age. **Int J Dermatol**; v. 23, p. 322-329, 1984.

LEVIN, C.Y.; MAIBACH, H.I. Irritant contact dermatitis: is there an immunologic component? Review. **International Immunopharmacology**; 2, p. 183-189, 2002.

LEVIN, C.Y.; MAIBACH, H.I. Do cool water or physiologic saline compresses enhance resolution of experimentally-induced irritant dermatitis? **Contact Dermatitis**; v. 45, p. 146-150, 2001.

LEVIN, C.Y.; MAIBACH, H.I. Efficacy of corticosteroids in acute experimental irritant contact dermatitis? **Contact Dermatitis**; v. 48, p. 179-182, 2000.

LEWIS, R.W.; MCCALL, J.C.; BOTHAM, P.A.; KIMBER, I. Investigation of TNF alpha release as a measure of skin irritancy. **Toxicology in Vitro**; v. 7, p. 393-395, 1993.

LIEBGOTT, T.; MIOLLAN, M.; BERCHADSKY, Y.; DRIEU, K.; CULCASI, M.; PIETRI, S. Complementary cardioprotective effects of flavonoid metabolites and terpenoid constituents of Ginkgo biloba extract (EGb 761) during ischemia and reperfusion. **Basic Res Cardiol**, v. 95, p. 368-377, 2000.

LIM, Y.L.; GOON, A. Occupational skin diseases in Singapore 2003-2004: an epidemiologic update. **Contact Dermatitis**; v. 56 (3), p. 157–159, 2007.

LIMA, M.A.; SILVEIRA, E.R.; MARQUES, M.S.; SANTOS, R.H.; GAMBARDELA, M.T.; Biologically active flavonoids and terpenoids from *Egletes viscosa*. **Phytochemistry**. v. 41, n. 1, p. 217-23, 1996.

LINDBERG, M.; TAMMELA, M.; BOSTROM, A.; FISHER, T.; INEROT, A.; SUNDBERG, K.; BERNE, B. are adverse skin reactions to cosmetics underestimated in the clinical assessment of contact dermatitis? A prospective study among 1075 patients attending Swedish patch test clinics. **Acta Derm Venereol.**; v. 84(4), p. 291-295, 2004.

LISBY, S.; MULLER, K.M.; JONGENEEL, C.V.; SAURAT, J.H.; HAUSER, C. Nickel and skin irritants up-regulate tumor necrosis factor- $\alpha$  mRNA in keratinocytes by different but potentially synergistic mechanisms. **Int Immunol**; v. 7, p. 343–352, 1995.

LISBY, S.; BAADSGAARD, O. Mechanisms of irritant contact dermatitis. In: **Textbook of Contact Dermatitis**, 3rd edition, Rycroft R J G, Menne T, Frosch P J, Lepoittevin J P (eds): Berlin, Springer-Verlag, p. 93–106, 2001.

LIU, V.; MACKOOL, B.T. Mycophenolate in dermatology. **Journal of Dermatological Treatment**; v. 14, p. 203–211, 2003.

LO, Y.Y.; CONQUER, J.Á.; GRINSTEIN, S.; CRUZ, T.F. Interleukin-1 beta induction of c-fos and collagenase expression in articular chondrocytes: involvement of reactive oxygen species. **J Cell Biochem**; v. 69, p. 19-29, 1998.

LODEN, M.; LINDBERG, M. The influence of a single application of different moisturizers on the skin capacitance. **Acta Derm-Venereol**; v. 71, p. 79– 82, 1991.

LODEN, M. Barrier recovery and influence of irritant stimuli in skin treated with a moisturizing cream. **Contact Dermatitis**; v. 36(5), p. 256– 260, 1997.

LOVELL, P.; VENDER, R.B. Management and treatment of pruritus. **Skin Therapy Lett.**; v. 12, n. 1, p. 1-6, 2007.

LUSTER, M.I.; SIMEONOVA, P.P.; GALLUCCI, R.; MATHESON J. Tumor necrosis factor alpha and toxicology. **Crit Rev Toxicol**; v. 29, p. 491-511, 1999.

MAIA, J.L.; LIMA-JUNIOR, R.C.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S. Oleanolic Acid, a pentacyclic triterpene attenuates the mustard oil-induced colonic nociception in mice. **Biol Pharm Bull**; v. 29, n. 1, p.82-85, 2006.

MACIEL, M.A.M. Croton cajucara: uma escolha etnobotânica. Tese: Doutor em Química, Instituto de Química, **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, Brasil, p. 19-20, 23-33, 67, 117, 1997

MAHE, A.; FAYE, O.; FANELLO, S. Public health and dermatology in developing countries. **Bull Soc Pathol Exot.**; v. 96, p. 351-356, 2003.

MALTEN, K.E. Thoughts on irritant contact dermatitis. **Contact Dermatitis**; v. 7, p. 435–438, 1981.

MANTIONE, C.R.; RODRIGUEZ, R. A bradykinin (BK)<sub>1</sub> receptor antagonist blocks capsaicin-induced ear inflammation in mice **Br. J. Pharmacol.**; v. 99,p. 516-518, 1990.

MANTLE, D.; GOK, M.A.; LENNARD, T.W. Adverse and beneficial effects of plant extracts on skin and skin disorders.**Adverse Drug React. Toxicol. Rev.**; v. 20, p. 89-103, 2001.

MARKS, F.; BERTSCH, S.; FQRSTENBURGER, G. Ornithine decarboxylase activity, cell proliferation, and tumour promotion in mouse epidermis in vivo. **Cancer Res**; v. 39, p. 4183- 4188, 1979.

MATOS, F.J.A.; **Plantas Medicinai**s, editora UFC, 2ª edição. Fortaleza , 2000.

MATOS,F.J.A.; **Farmácias vivas**,editora UFC. Fortaleza, 1991.

MATSUE, H.; CRUZ, P.D. JR; BERGSTRESSER, P.R.; TAKASHIMA, A. Cytokine expression by epidermal cell subpopulations. **J. Invest. Dermatol.**; v. 99, p. 42S-45S, 1992.

MCFADDEN, J.P.; BASKETTER, D.A. Contact allergy, irritancy and 'danger' **Contact Dermatitis**; v. 4, n. 23, p. 123-127, 2000.

MCKENZIE, R.C., SAUDER, D.N. The role of keratinocytes cytokines in inflammation and immunity. **J. Invest. Dermatol.**; v. 95, p. 1055-1075, 1990.

MCOSKER, D.E.; BECK, L.W. Characteristics of accommodated (hardened) skin. **J Invest Dermatol**; v. 48, p. 372–383, 1967.

MEDEIROS, R.; OTUKI, M.F.; AVELLAR, M.C.; CALIXTO, J.B. Mechanisms underlying the inhibitory actions of the pentacyclic triterpene alpha-amyrin in the mouse skin inflammation induced by phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **Eur J Pharmacol**. v. 22, n. 559(2-3), p. 227-235, 2007.

MELO, C.L., MAIA, S.B., SOUZA, M.F.; RAO, VSN.; LIMA, MAS.; SILVEIRA, ER; CNS. Actions of ternatin, a flavonoid from *Egletes viscosa*. **Fitoterapia**, v. 4, p. 306-309, 1993.

MELO, C.M.; MAIA, J.L.; CAVALCANTE, I.J.; LIMA, M.A.; VIEIRA, G.A.; SILVEIRA, E.R.; RAO, V.S.; SANTOS, F.A. 12-acetoxyhawtriwaic acid lactone, a diterpene from

egletes viscosa, attenuates capsaicin-induced ear edema and hindpaw nociception in mice: possible mechanisms. **planta med.**; v. 72, n. 7, p. 584-589, 2006.

MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Desenvolvimento de Fitoterápicos. São Paulo: Robe Editorial, 2000.

MIRANDA, F.J.; ALABADI, J.A.; ORTI, M.; CENTENO, J.M.; PINON, M.; YUSTE, A.; SANZ-CERVERA, J.F.; MARCO, J.A.; ALBORCH, E. Comparative analysis of the vascular actions of diterpenes isolated from *Euphorbia canariensis*. **J.Pharm. Pharmacol.**; v. 50, p. 237-241, 1998.

MOON, S.H.; SEO, K.I.; HAN, W.S.; SUH, D.H.; CHO, K.H.; KIM, J.J.; EUN, H.C. Pathological findings in cumulative irritation induced by SLS and croton oil in hairless mice. **Contact Dermatitis**; v. 44, p. 240–245, 2001.

MORTZ, C.G.; LAURITSEN, J.M.; BINDSLEV-JENSEN, C.; ANDERSEN, K.E. Prevalence of atopic dermatitis, asthma, allergic rhinitis, and hand and contact dermatitis in adolescents. The Odense Adolescence Cohort Study on Atopic Diseases and Dermatitis. **Br J Dermatol.**; v. 144, n. 3, p. 523-532, 2001.

MURAKAWA M., YAMAOKA K., TANAKA Y., FUKADA Y. Involvement of tumor necrosis factor (TNF)-  $\alpha$  in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)- induced skin edema in mice. **Biochem pharmacol.** v. 71, p.1331-1336, 2006.

MURPHY, J.E.; ROBERT, C.; KUPPER, T.S. Interleukin-1 and cutaneous inflammation: A crucial link between innate and acquired immunity. **J Invest Dermatol**; v. 114, p. 602–608, 2000.

MURPHY, G.F.; MIHM Jr, M.C. A pele. In: **Patologia Estrutural e Funcional**. Eds. Cotran, RS., Kumar, V., Collins, T. Guanabara Koogan: Philadelphia. 2000. p. 1068-1075.

SHEU, M.Y.; FOWLER, A.J.; KAO, J.; SCHMUTH, M.; SCHOONJANS, K.; AUWERX, J.; FLUHR, J.W.; MAN, M.Q.; ELIAS, P.M.; FEINGOLD, K.R. Topical peroxisome proliferator activated receptor-alpha activators reduce inflammation in irritant and allergic contact dermatitis models. **J Invest Dermatol.**; v.118, n. 1, p.94-101, 2002.

NACHBAR, F.; KORTING, H.C. The role of vitamin E in normal and damaged skin. **J Mol Med.**, v. 73, p. 7-17, 1995.

NATHAN, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **Faseb J.**, v. 6, p.3051-3064, 1992.

NES, W.D.; ZHOU, W. Terpenoids: HIGHER, 2001. In: Encyclopedia of Life Sciences, London: Nature Publishing Group, Disponível em: <<http://www.els.net>>.

NETHERCOTT, J. Positive predictive accuracy of patch tests. **Immun Allergy Clin N Am.**, v. 9, p. 549–553, 1989.

NEUNER, P.; URBANSKI, A.; TRAUTINGER, F.; MÖLLER, A.; KIRNBAUER, R.; KAPP, A.; SCHÖPF, E.; SCHWARZ, T.; LUGER, TA. Increased IL-6 production by monocytes and keratinocytes in patients with psoriasis. **J invest Dermatol**; v. 97, p. 27, 1991.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. **Journal of Natural Product**; v. 66, p. 1022–1037, 2003.

NICKOLOFF, J.B. The cytokine network in psoriasis. **Arch. Dermatol.**; v. 127, p. 871 – 884, 1991.

NICKOLOFF, B.J. Immunological reactions triggered during irritant contact dermatitis. **Am J Contact Dermatitis.**, v. 9, p. 107-110, 1998.

NICOLAOU, N.; JOHNSTON, G.A. The use of complementary medicine by patients referred to a contact dermatitis clinic **Contact Dermatitis**. v. 51, p. 30-33, 2004.

NISHIZUKA, Y. Studies and perspectives of protein kinase C. **Science**; v. 223, n. 4761, p. 305-312, 1986.

OBERYSZYN, T.M.; SABOURIN, C.L.; BIJUR, G.N.; OBERYSZYN, A.S.; BOROS, L.G.; ROBERTSON, F.M. Interleukin-1 alpha gene expression and localization of interleukin-1 alpha protein during tumor promotion. **Mol Carcinog**.; v. 7, n. 4, p. 238-248, 1993.

OJO-AMAIZE E.A., KAPAH I P., KAKKANAI AH V.N., TAKAHASHI T., SHALOM-BARAK T., COTTAM H.B., ADESOMOJU A.A., NCHEKWUBE E.J., OYEMADE O.A., KARIN M., OKOGUN J.I. Hypoestoxide, a novel anti-inflammatory natural diterpene, inhibits the activity of IkappaB kinase. **Cell Immunol**.; v.209, p.149-157, 2001.

PAJONK, F; RIEDISSER, A; HENKE, M; MCBRIDE, W.; FIEBICH, B. The effects of tea extracts on proinflammatory signaling. **BMC Med**. V.1, n. 4, p. 28, 2006.

PARISH, W.E. Chemical irritation and predisposing environmental stress (cold wind and hard water). In: Marks R. Plewig G (eds): *The environmental threat to the skin*. London: **Martin Dunitz**. p.185-193, 1991:.

PAULSEN, E.; CHISTENSEN, L.P.; ANDERSEN, K.E. Cosmetics and herbal remedies with Compositae plant extracts - are they tolerated by Compositae-allergic patients? **Contact Dermatitis**. v. 5, n. 1, p.15-23, 2008.

PERALTA, J.G.; LLESUY, S; EVELSON, P; CARRERAS, M.C; FLECHA, B.G; PODEROSO, J.J. Oxidative stress in skeletal muscle during sepsis in rats. **Circ Shock**. V. 39, n. 2, p. 153-159, 1993.

PESSOA, C.; SILVEIRA, E.R.; LEMOS, T.L.; WETMORE, L.A.; MORAES, M.O.; LEYVA, A. Antiproliferative effects of compounds derived from plants of Northeast Brazil. **Phytother. Res.**, v. 14, n. 3, p. 187-191, 2000.

PETERSEN, T.K. In vivo Pharmacological Disease Models for Psoriasis and Atopic Dermatitis in Drug Discovery. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 99, p. 104–115, 2006.

PICARDI, A; ABENI, D. Stressful life events and skin diseases: disentangling evidence from myth. **Psychother Psychosom**, v. 70, p. 118-136, 2001.

PIGUET, PF; GRAU, G.E.; ALLET, B.; VASSALLI, P. Tumor necrosis factor / cachectin is an effector of skin and gut lesions of the acute phase of graft-vs disease. **J exp med.**; v. 166, p. 1280, 1987.

PIGUET, P.F.; GRAU, G.E.; HAUSER, C.; VASSALI, P. Tumor necrosis factor is a critical mediator in hapten-induced irritant and contact hypersensitivity reactions. **J Exp Med.**; v. 173, p. 673–679, 1991.

PÓNYAI, G.; TEMESVÁRI, E.; KÁRPÁTI, S. Adulthood atopic dermatitis: epidemiology, clinical symptoms, provoking and prognostic factors. **Orv. Hetil.**; v. 148, p. 21-26, 2007.

PORTUGAL, M.; BARAK, V.; GINSBURG, I.; KOHEN, R. Interplay among oxidants, antioxidants, and cytokines in skin disorders: Present status and future considerations. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 61, p. 412-422, 2007.

PROTTEY, C.; HARTOP, P.J.; FERGUSON, T.F.M. The effect of soap upon certain aspects of skin biochemistry. **J Soc Cosmet Chem**, v. 24, p. 473-492, 1972.

PUIGNERO, V.; QUERALT, J. Effect of topically applied cyclooxygenase-2- selective inhibitors on arachidonic acid and tetraacanoylphorbol acetate- induced dermal inflammation in the mouse. **Inflammation**, v. 21, p. 431-442, 1997.



QUEILLE-ROUSSEL, C.; DUTEIL, L.; PADILLA J.M.; PONCET, M., CZERNIELEWSKI, J. Objective assessment of topical anti-inflammatory drug activity on experimentally induced nickel contact dermatitis: comparison between visual scoring, colorimetry, laser Doppler velocimetry, and transepidermal water loss. **Skin Pharmacol.**; v. 3, p. 248–255, 1990.

RAICK, A.N.; THUMM, K.; CHIVERS, B.R. Early effects of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate on the incorporation of tritiated precursor into DNA and the thickness of the interfollicular epidermis, and their relation to tumor promotion in mouse skin. **Cancer Res.**; v. 32, n. 7, p.1562-1568, 1972.

RAJIC, A.; KWEIFIO-OKAI, G.; MACRIDES, T.; SANDEMAN, R.M.; CHANDLER, D.S.; POLYA, G.M. Inhibition of serine proteases by anti-inflammatory triterpenoids. **Planta Med.**; v. 66, p. 206-210, 2000.

RAMSEY, S.D.; NEWTON, K.; BLOUGH, D.; MCCULLOCH, D.K.; SANDHU, N.; REIBER, G.E. Incidence, outcomes, and cost of foot ulcers in patients with diabetes. **Diabetes Care.** v. 22, p. 382-387, 1999.

RAO, T.S.; CURRIER, J.L.; SHAFFER, A.F.; ISAKSON, PC. Comparative evaluation of arachidonic (AA)- and tetraacnonylphorbol acetate (TPA)- induced dermal inflammation. **Inflammation**, v. 17, p. 723-741, 1993.

RAO, V.S.N.; SANTOS, F.A.; SOBREIRA, T.T.; SOUZA, M.F.; MELO, C.L.; SILVEIRA, E.R. Investigations on the Gastroprotective and Antidiarrhoeal Properties of Ternatin, a Tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Planta Medica**, v. 63, p. 146-149, 1997.

RATES, S.M.K. Plants as sources of drugs. **Toxicon**, v. 39, n. 5, p. 603 – 613, 2001.

RECIO, M.C.; GINER, R.M.; URIBURU, L.; MÁÑEZ, S.; CERDÁ, M.; DE LA FUENTE, JR.; RÍOS, JL. In vivo activity of pseudoguaianolide sesquiterpene lactones in acute and chronic inflammation. **Life Sci.** v. 19, n. 66(26), p. 2509-2518, 2000.

RIOS, J.L.; BAS, E.; RECIO, M.C. Effects of Natural Products on Contact Dermatitis. *Curr. Med. Chem. – Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents*, 2005, 4, 65-80.

Bentham Science Publishers Ltd.

RIBAUD, C.; GARSON, J.C.; DOUCET, J.; LEVEQUE, J.L. Organization of stratum corneum lipids in relation to permeability: influence of sodium lauryl sulfate and preheating. *Pharm Res.*, v. 11, p. 1414–1418, 1994.

RICHARDSON, J.; SMITH, J.E.; MCINTYRE, M.; THOMAS, R.; PILKINGTON, K. Aloe vera for preventing radiation-induced skin reactions: a systematic literature review. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. v. 17, n. 6, p. 478-484, 2005.

RICHEY, M.L.; RICHEY, H.K.; FENSKE, N.A. Aging-related skin changes: development and clinical meaning. *Geriatrics*, v. 43, p. 49-52, 1988.

ROBERT, C.; KUPPER, T.S. Inflammatory skin diseases, T cells, and immune surveillance. *N. Engl. J. Med.*, v. 341, p. 1817, 1999.

ROBINSON, M.K.; SCHWARTZ, J.F.; PERKINS, M.A. Application of a novel and noninvasive skin sampling technique for analyzing cytokine-mediated inflammation in rosacea. *J Toxicol Cutaneous Ocul Toxicol.*; 22: 13–22, 2003.

ROSS, R.; RESKE-KUNZ, A.B. The role of NO in contact hypersensitivity *Int. Immunopharmacol.*; v.1, n. 8, p. 1469, 2001

RUTHERFORD, T.; NIXON, R.; TAM, M.; TATE, B. Allergy to tea tree oil: Retrospective review of 41 cases with positive patch tests over 4.5 years. *Australas J Dermatol.*; v.48, n. 2, p. 83-7, 2007

RUZICKA, T. Eicosanoids and the skin. CRC press, Boca Raton, 1989.

SAINT-MEZARD, P.; ROSIERES, A.; KRASTEVA, M.; BERARD, F.; DUBOIS, B.; KAISERLIAN, D; et al. Allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol.*; v. 14, p. 284-295, 2004.

SAMPAIO, S.A.P.; RIVITTI, E.A. Eczemas. In: Dermatologia. São Paulo: **Artes Médicas**, 1998.

SANCHEZ, T.; MORENO, J.J. Role of leukocyte influx in tissue prostaglandin H synthase-2 overexpression induced by phorbol ester and arachidonic acid in skin. **Biochem. Pharmacol.**; v. 58, p. 877–879, 1999.

SANTAMARIA BABI, L.F.; PICKER, L.J.; PEREZ SOLER, M.T.; DRZIMALLA, K.; FLOHR, P.; BLASER, K.; HAUSER, C. Circulating allergen-reactive T cells from patients with atopic dermatitis and allergic contact dermatitis express the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen. **J Exp Med.**; v. 181,n. 5, p.1935-1940, 1995.

SARIPALLI, Y.V.; GADZIA, J.; BELSITO, D. Tacrolimus ointment 0.1% in the treatment of nickel-induced allergic contact dermatitis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 49, p. 477–482, 2003.

SCHMID-WENDTNER, M.H.; KORTING, H.C. The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. **Skin Pharmacol Physiol.**, v. 19, n. 6, p. :296-302, 2006.

SCHOLZ, K.; FURSTENBERGER, G.; MULLER- DECKER, K.; MARKS, F. Differential expression os prostaglandin-H synthase isoenzymes in normal and activated keratinocytes in vivo and in vitro. **Biochem J.**, v. 309, p. 263-269, 1995.

SEAMON, K.B.; PADDGETT, W.L.; DALY, J.W. Forskolin: unique diterpene activator of adnihil cilase in membranes and intact cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 78, p. 3367-3369, 1981.

SEITZ, C.S.; LIN, Q.; DENG, H.; KHAVARI, P.A. Alterations in NF- $\kappa$ B function in transgenic epithelial tissue demonstrate a growth inhibitory role for NF- $\kappa$ B. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 95, p. 2307, 1998.

SEITZ, C.S.; FREIBERG, R.A.; HINATA, K.; KHAVARI, P.A. NF- $\kappa$ B determines localization and features of cell death in epidermis. **J. Clin. Invest.**, v. 105, p. 253, 2000.

SEVERS, G.A.; LAWLOR, T.H.; PURCELL, S.M.; ADLER, D.J.; THOMPSON R. Cutaneous adverse reaction to infliximab: report of psoriasis developing in 3 patients. **Cutis**.v. 8, n. 3, p. 231-237, 2007

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DERMATOLOGIA. SENSO DA SBD: Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. *An Bras Dermatol.* v. 81, n. 6, p. 549-58, 2006.

SHEEHAN, M.P.; ATHERTON, D.J. One year follow-up of children tested with Chinese medicinal herbs for atopic eczema. **Br J Dermatol.**, v. 130, p. 488-493, 1994.

SILVA, R.M.; SANTOS, F.A.; MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; RAO, V.S. Effect of trans-dehydrocrotonin, a 19-nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara* on experimental hypertriglyceridaemia and hypercholesterolaemia induced by Triton WR 1339 (Tyloxapol) in mice. **Planta Med.**, v. 67, p. 1-3, 2001.

SILVEIRA, E.R.; PESSOA, O.D.L. **Constituintes microcelulares de plantas do Nordeste com potencial farmacológico - com dados de RMN <sup>13</sup>C.** Expressão Gráfica, 2005, p. 27-39.

SIMÕES, E.R.B; SILVA, E.A.T; SILVEIRA, E.R.; LIMA, M.S.; BARROS, G.S.V. Pharmacological effects of active principles of *Egletes viscosa*. **Brasilian-Sino Symposium on chemistry and pharmacology of natural products**, P.111, p.117, 1989.

SIMÕES, C.M.O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 3º edição. Editora da universidade/ UFRGS/ UFSC, 2001.

SIMON, JC. The skin--an immunocompetent organ. **Fortschr Med.**; v.20, n. 112(20-21), p. 293-295, 1994.

SIMPSON, P.J.; FANTONE, J.C.; MICKELSON, J.K.; GALLAGHER, K.P.; LUCCHESI, B.R. Identification of a time window for therapy to reduce experimental canine myocardial injury: suppression of neutrophil activation during 72 hours of reperfusion. **Circ Res.** v. 63, n. 6, p. 1070-1079, 1988

SIMPSON, E.L.; BASCO, M.; HANIFIN, J. A cross-sectional survey of complementary and alternative medicine use in patients with atopic dermatitis. **Am. J. Contact Dermat.**; v. 14, p. 144-147, 2003.

SITTART, J.A.S.; PIRES, M.C. Eczemas. In: **Dermatologia para o Clínico**. 2a ed. São Paulo: Lemos Editora, 1998.

SMITH, C. New approaches to topical therapy. **Clin Exp Dermatol.**, v. 25, p. 567-574, 2000.

SMITH, H.R.; BASKETTER, D.A.; MCFADDEN, J.P. Irritant dermatitis, irritancy and its role in allergic contact dermatitis. **Clinical and Experimental Dermatology**, v. 27, p. 138-146, 2002.

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA E.R. Anti-anaphylactic and anti-inflammatory effects of ternatin, a flavonoid isolated from *Egletes viscosa*. **Brasilian J. Med. Res.**, 25 1029-1032, 1992.

SOUZA, M.F.; CUNHA, G.M.A.; FONTENELE, J.B.; VIANA, G.S.B.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Antithrombotic activity of Ternatin, a tetramethoxy flavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytotherapy Research.**, v. 8, p. 478-481, 1994.

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Inhibition of lipid peroxidation by ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscosa*. **Phytomedicine**, v. 4, p. 27-31, 1997.

SOUZA, M.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Prevention of Acetaminophen-induced hepatotoxicity by ternatin, bioflavone from *Egletes viscosa* Less. **Phytoterapy Research.**, v. 12, p. 557-561, 1998.

SOUZA, M.F.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S.N.; SIDRIM, J.J.C.; MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; SILVEIRA, E.R. Antinociceptive, anticonvulsant and antibacterial effects of the oil from flower heads of *Egletes viscosa* . **Phytotherapy Research.**, v. 12, p. 28-31, 1998.

SPERGEL, J.M.; MIZOGUCHI, E.; OETTGEN, H.; BHAN, A.K.; GEHA, RS. Role of TH1 and TH2 cytokines in a murine model of allergic dermatitis. **J. clin. Invest.**; v. 103, p. 1103-1111, 1999

STARLEY, I.F.; MOHAMMED, P.; SCHNEIDER, G.; BICKLER, S.W. The treatment of paediatric burns using topical papaya. **Burns**; v.25, n.7, p. 636-639, 1999.

STEINHOFF, M.; LUGER, T.A. The skin cytokine network. In: Skin Immune System (SIS): Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology, 3rd edition, Bos J D (ed): **Boca Raton**, CRC Press LLC, p. 350–365, 2004.

STENDAHL, O.; MOLIN, L.; DAHLGREN, C. The inhibition of polymorphonuclear leukocyte cytotoxicity by dapsone. A possible mechanism in the treatment of dermatitis herpetiformis. **J Clin Invest**; v. 62, p. 214-220, 1978.

STERNER, O.; SZALLASI, A. Novel natural vanilloid receptor agonists: new therapeutic targets for drug development. **Trends Pharmacol. Sci.**; v. 20, p. 459-465, 1999.

STREILEIN, J.W. Skin-associated lymphoid tissues (SALT): origins and functions. **J Invest Dermatol**; v.80, p. 12S-16S, 1983.

STULZER, H.K.; TAGLIARI, M.P.; ZAMPIROLO, J.A.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. **J. Ethnopharmacol.**; v. 108, p. 379-384, 2006.

SUGINO, K.; IMOKAWA, G.; MAIBACH, H.I. Ethnic difference of stratum corneum lipid in relation to stratum corneum function. **Dermatol**; v. 700, p. 597, 1993.

SUN, G.; ZHANG, Y.; TAKUMA, D.; ONOGAWA, M.; YOKOTA, J.; HAMADA, A.; YOSHIOKA, S.; KUSUNOSE, M.; MIYAMURA, M.; KYOTANI, S.; NISHIOKA, Y. Effect of orally administered *Eriobotrya japonica* seed extract on allergic contact dermatitis in rats. **J Pharm Pharmacol.**; v. 59,n.10, p.1405-12, 2007.

TAMURA, T.; MATSUBARA, M.; TAKADA, C.; HASEGAWA KSUZUKI, K.; OHMORI, K.; KARASAWA A. effects of alopataidine hydrochloride an antihistamine drug on skin inflammation induced by repeated topical application of oxazolone in mice.**Br J Dermatol**; v. 151, n. 6, p. 1133-1142, 2004.

TAMURA, T.; AMANO, T.; OHMORI, K.; MANABE, H. The effects of olopatadine hydrochloride on the number of scratching induced by repeated application of oxazolone in mice. **European Journal of Pharmacology**. v. 524, n. 1-3, 7, p. 149-154, 2005.

TORSSELL, K.G.B. The mevalonic acid pathway. New York: **John Wiley & Sons**, v. 189, 1983.

TEIXEIRA, M.M.; WILLIAMS, T.J.; HELLEWELL, P.G. Role of prostaglandins and nitric oxide in acute inflammatory reactions in guinea-pig skin. **Br J Pharmacol**; v. 110, p. 1515 1521, 1993.

TORRES, L.M.; GAMBERINI, M.T.; ROQUE, N.F.; LIMA-LANDMAN, M.T.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. Diterpene from *Baccharis trimera* with a relaxant effect on rat vascular smooth muscle. **Phytochemistry**; v. 55, p. 617-619, 2000.

TOSATO, G.; PIKE, S.E. Interferon- $\beta$ 2/interleukin 6 is a costimulant for human T lymphocytes. **J Immunol** v. 141, p. 1556, 1988.

TROUBA, K.J.; HAMADEH, H.K.; AMIN, R.P.; GERMOLEC, D.R. Oxidative stress and its role in skin disease. **Antioxid Redox Signal**; v. 4, p. 665-673, 2002.

TYLER, V.E. Herbs of Choice: The Therapeutic Use of Phytomedicinals. New York, NY: **Pharmaceutical Products Press**; 1994.

UENO, T.; KAWANA, S. Case of allergic contact dermatitis due to a topical agent containing chlorpheniramine maleate, with a false-negative patch test. **J Dermatol.**; v. 35, n. 1, p. 46-48, 2008.

VASUNIA, K.B.; MILLER, M.L.; PUGA, A.; BAXTER, C.S. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) is expressed in mouse skin in response to tumor-promoting agents and modulates dermal inflammation and epidermal dark cell numbers. **Carcinogenesis**; v. 15, n. 4, p. 653-660, 1994.

VAN DEN BERG, M.E. **Plantas Medicinais na Amazônia, contribuição ao seu conhecimento sistemático**, 2<sup>a</sup> Ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, v. 168, p. 124-125, 1993.

VAN SNICK, J.: Interleukin-6: an overview: **Annu Rev Immunol**; v. 8, p. 253, 1990.

VENDER, R.B. Alternative treatments for atopic dermatitis: a selected review. **Skin Therapy Lett.** v.7, p. 1-5, 2002.

WAKEFIELD, P.E.; JAMES, W.D.; SAMLASKA, C.P.; METTZES, M.S. Tumor necrosis factor. **J. Am. Acad. Dermatol.**; v. 24, p. 675-685, 1991.

WALENCKA, E.; ROZALSKA, S.; WYSOKINSKA, H.; ROZALSKI, M.; KUZMA, L.; ROZALSKA, B. Salvipisone and aethiopinone from *Salvia sclarea* hairy roots modulate staphylococcal antibiotic resistance and express anti-biofilm activity. **Planta Med.**; v. 73, n. 6, p. 545-551, 2007.



WANG, H.Q.; SMART, R.C. Overexpression of protein kinase C-alpha in the epidermis of transgenic mice results in striking alterations in phorbol ester-induced inflammation and COX-2, MIP-2 and TNF- $\alpha$  expression but not tumor promotion. **J. Cell Sci.** v. 112, p. 3497–3506, 1999.

WANG, H.Q.; KIM, M.P.; TIANO, H.F.; LANGENBACH, R.; SMART, R.C. Protein kinase C- alpha Coordinately regulates cytosolic phospholipase A (2) activity and the expression of cyclooxygenase-2 through different mechanisms in mouse keratinocytes. **Mol Pharmacol**; v. 59, p. 860-866, 2001.

WANG, G.J.; WU, X.C.; LIN, Y.L.; REN, J.; SHUM, A.Y.; WU, Y.Y.; CHEN, C.F. Ca<sup>2+</sup> channel blocking effect of iso-S-petasin in rat aortic smooth muscle cells. **Eur J Pharmacol**; v. 445, p. 239-245, 2002.

WEBB, E.F.; TZIMAS M.N.; NEWSHOLME S.J.; GRISWOLD D.E. Intralesional cytokines in chronic oxazolone-induced contact sensitivity suggest roles for tumor necrosis factor alpha and interleukin-4. **J Invest Dermatol.**; v. 111, n. 1, p. 86-92, 1998.

WEE, S.S.; SHIN, Y.W.; BAE, E.A.; KIM, D.H. Effect of chunghyuldan in chronic oxazolone-induced mouse dermatitis. **Biol Pharm Bull.**; v. 28, n. 6, p. 1079-1082, 2005.

WEIGAND, D.A.; HAIGOOD, C.; GAYLOR, J.R. Cell layers and density of negro and Caucasian stratum corneum. **J Invest Dermatol**; v. 62, p. 563-568, 1974.

WELSS, T.; BASKETTER, D.A.; SCHRODER, K R. In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. **Toxicol In Vitro**; v. 18, p. 231–243, 2004.

WELDON, D. What lies beneath the surface of the itch in adults? **Allergy Asthma Proc.**; v. Mar-Apr;28(2), p. 153-162, 2007.

WERZ, O., KLEMM J., SAMUELSSON B., RADMARK O. phorbol ester up-regulates capacities of nuclear translocation and human polymorphonuclear leukocytes. **Blood**; v. 97, p. 2487-2495, 2001.

WICHTL, M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. **Boca Raton**, Fla: CRC Press Inc; 1994

WIGGER-ALBERTI, W.; ELSNER, P. Contact dermatitis due to irritation. In: Kanerva L, Elsner P, Wahlberg JE, Maibach H, editors. Handbook of occupational dermatology. New York: **Springer-Verlag**; p. 99– 110, 2000.

WILLIAM, I.R.; KUPPER, S.T. Immunity at the surface: Homeostatic mechanisms of the skin immune system. **Life Sciences**. v. 58, n. 18, p. 1485-1507, 1996.

WILLIS, C.M.; STEPHENS, C.J.; WILKINSON, J.D. Epidermal damage induced by irritants in man: a light and electron microscopic study. **J Invest Dermatol**; v. 93, p. 695–699, 1989.

WILLIS, C.M.; STEPHENS, C.J.M.; WILKINSON, J.D. Differential effect of structurally unrelated chemical irritants on the density of proliferating keratinocytes in 48h patch test reactions. **J Invest Dermatol**; v. 99, p. 449-453, 1992.

WILMER, J.L.; BURLESON, F.G.; KAYAMA, F.; KANNO, J.; LUSTER, M.I. Cytokine induction in human epidermal keratinocytes exposed to contact irritants and its relation to chemical-induced inflammation in mouse skin. **J Invest Dermatol.**; v. 102, n. 6, p. 915-922, 1994.

WOOD, L.C.; JACKSON, S.M.; ELIQAS, P.M.; GRUNFELD, C.; FEINGOLD, K. R. Cutaneous barrier perturbation stimulates cytokine production in the epidermis of mice. **J Clin Invest**; v. 90, p. 482-487, 1992.

WOLKENSTEIN, P.; GROB, J.J.; BASTUJI-GARIN, S.; RUSZCZYNSKI, S.; ROUJEAU, J.C.; REVUZ, J. French people and skin diseases: results of a survey using a representative sample. **Arch Dermatol.**; v. 139, p. 1614-1619, 2003.

WOLLINA, U. The role of topical calcineurin inhibitors for skin diseases other than atopic dermatitis. **Am J Clin Dermatol.**; v. 8, n. 3, p. 157-173, 2007.

WOZNIACKA, A.; SYSA-JEDRZEJOWSKA, A.; ADAMUS, J., GEBICKI, J. Topical application of NADH for the treatment of rosacea and contact dermatitis. **Clin Exp Dermatol**; v. 28, p. 61–63, 2003.

WULFHORST, B. Hardening-Effect. 1. Review and state of the art. **Allergologie**; v. 19, p. 500–508, 1996.

YOUNG, J.M.; DE YOUNG I.M. Pharmacological methods in the control of inflammation, J. Spetor, and N. Back (Eds), 215-231, Alan R. Liss, New York (2000).

YUE – ZHONG SHU. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**. v.61, p.1053 – 1071, 1998.

ZHAI, H.; MAIBACH, H. Moisturizers in preventing irritant contact dermatitis: an overview. **Contact Dermatitis**; v. 38, p. 241–244, 1998.

ZHANG, C.F.; WANG, D.S.; LING, X.Z. Diacetylamethystoidin A protects isolated working rat heart against myocard reperfusion injury. **Zhongguo Yao Li Xue Bao**; v. 17, p. 245-248, 1996.



