



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**MORFOANATOMIA, ATIVIDADE ANTI-
INFLAMATÓRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE
POIRETIA TETRAPHYLLA (POIRET) BURKART
(LEGUMINOSAE)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Lauri Antônio Junior Royer

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**MORFOANATOMIA, ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *POIRETIA*
TETRAPHYLLA (POIRET) BURKART (LEGUMINOSAE)**

por

Lauri Antônio Junior Royer

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, da Universidade Federal de Santa Maria, (UFSM), RS, como requisito parcial para a obtenção de grau de **Mestre em Ciências Farmacêuticas.**

Orientadora: Prof^a. Dr^a Melânia Palermo Manfron

Santa Maria, RS, Brasil

2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**MORFOANATOMIA, ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *POIRETIA TETRAPHYLLA*
(POIRET) BURKART (LEGUMINOSAE)**

elaborada por
Lauri Antônio Junior Royer

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

Melânia Palermo Manfron, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Solange Cristina da Silva Martins Hoelzel, Dr^a. (UNIFRA)

Lauren Crossetti Vaucher, Dr^a. (UFSM)

Santa Maria, 22 de dezembro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

Aos meus pais, Geny Royer e Lauri Antônio Royer, pelo incentivo aos estudos e exemplos de vida, honestidade e humildade.

Aos meus irmãos, Carine Royer e Raul Royer, pelos conselhos e amizade verdadeira.

A todos meus familiares, avós, tios, tias, primos, primas e sobrinha, pela alegria de viver.

Aos amigos, nos momentos bons e ruins.

À Melânia Palermo Manfron, orientadora, amiga, “mãe”, pelos ensinamentos, incentivo e carinho.

Aos colegas e amigos de laboratório, Alexandre, Aline, Camila B., Camila Z., Daiane, Gustavo, Juliana, Raquel N., Rachel, Rosana, Tiago, Vera.

Ao Jardim Botânico, especialmente ao diretor Dr. Renato Aquino Záchia e o técnico Reginaldo, pelo material concedido.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela qualificação acadêmica.

*“Segue o teu destino...
Rega as tuas plantas;
Ama as tuas rosas.
O resto é a sombra
de árvores alheias”*

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Dissertação de Mestrado

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Universidade Federal de Santa Maria

MORFOANATOMIA, ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *POIRETIA TETRAPHYLLA* (POIRET) BURKART (LEGUMINOSAE)

AUTOR: Lauri Antônio Junior Royer

ORIENTADORA: Melânia Palermo Manfron

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 22 de dezembro de 2011.

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk., pertence a família Leguminosae, subfamília Papilionoideae. É conhecida popularmente como erva-de-touro-miúda ou chá-dos-pampas, ocorre no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. *P. tetraphylla* é utilizada como tônica, em afecções estomacais, como sudorífera, anti-inflamatória, anti-helmíntica e inseticida. Esta planta é uma erva a subarbusto ereto que pode atingir 1 metro de altura. Suas inflorescências são terminais, em forma de cacho com flores amareladas. Os frutos são legumes do tipo sâmara de até 2,5 cm de comprimento. Foi verificada a presença de óleos voláteis, taninos, flavonóides e saponinas nas folhas, caules e flores. A análise morfológica foi efetuada em estereomicroscópio e a análise anatômica em secções paradérmicas e transversais com inclusão em hidroxietilmetacrilato. O estudo farmacobotânico conduzido demonstra que as folhas são caracteristicamente 4-folioladas, o folíolo mede de 0,5-1,2 cm de comprimento por 0,5-1,0 cm de largura e possui forma obovada. Possui cutícula lisa e plicada, presença de estômatos nas duas faces epidérmicas, células mucilaginosas, e falta de formações epicuticulares. O mesofilo assume padrão heterogêneo e assimétrico, o feixe vascular é do tipo colateral fechado. Estruturas secretoras são observadas na região distal da lâmina foliar e apresentam conteúdo de coloração azul-esverdeada. O caule com até 1 m de altura e 0,15-0,40 cm de diâmetro, é caracteristicamente anguloso, estriado, glabro, esverdeado, pouco ramificado na base e com abundantes glândulas oblongas e translúcidas. A epiderme caulinar é uniestratificada, com cutícula espessa, estômatos evidentes, formações glandulares mucilaginosas arredondadas com conteúdo azulado e ausência de tricomas. O córtex é composto de 1 a 5 camadas de células parenquimáticas com variados tamanhos, o floema é protegido por uma camada de fibras esclerenquimáticas contendo até seis camadas, as quais apresentam-se na forma de anel interrompido envolvendo o sistema vascular. O cilindro central é do tipo sifonostólico contínuo ectofólico. A medula é composta por células parenquimáticas com espaços intercelulares do tipo meato, sem nenhum conteúdo interno. Estas singularidades morfoanatômicas são importantes e relevantes em trabalhos de farmacobotânica, pois em conjunto são usadas para estabelecer a autenticidade de diferentes espécies vegetais. A atividade anti-inflamatória do extrato hidroetanólico de *P. tetraphylla* foi avaliada através do modelo de indução da formação do tecido granulomatoso em ratos e dosagens séricas realizadas para verificação de toxicidade hepática e renal. Os animais tratados com extrato de *P. tetraphylla* apresentaram inibição do processo da inflamação de $31,20 \pm 4,71\%$, já o grupo tratado com nimesulida, padrão, mostrou uma inibição de $21,42 \pm 6,52\%$, quando comparados ao controle negativo propilenoglicol 20% ($p < 0,05$). As dosagens séricas de AST, ALT e creatinina de todos os grupos, quando comparadas ao controle negativo, não apresentaram nenhuma elevação significativa. A atividade anti-inflamatória apresentada para o extrato de *P. tetraphylla* pode estar associada à sua composição que contém saponinas e flavonóides.

Palavras chave: *Poiretia tetraphylla*. Farmacobotânica. Anti-inflamatória. Saponinas. Flavonóides.

ABSTRACT

Master's Degree Dissertation
 Postgraduate Program in Pharmaceutical Sciences
 Federal University of Santa Maria

MORPHOANATOMY, ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *POIRETIA TETRAPHYLLA* (POIRET) BURKART (LEGUMINOSAE)

AUTHOR: Lauri Antônio Junior Royer

ADVISER: Melânia Palermo Manfron

Presentation date: Santa Maria, December 22nd, 2011.

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk., is part of Leguminosae family, Papilionoideae subfamily. It is popularly known as “erva-de-touro-miúda” or “chá-dos-pampas” and occurs in Brazil, Argentina, Paraguay and Uruguay. *P. tetraphylla* is used in traditional medicine as tonic, sudoriferous, in stomach disorder, anti-inflammatory, anthelmintic and insecticidal. This plant is an erect herb to sub-shrub that can achieve 1 meter tall. Its inflorescence is terminal, raceme shaped, with yellow flowers. Its fruits are samara type up to 2,5 cm length. Was verified the presence of volatile oil, tannins, flavonoids, and saponine in your leaves, stem and flowers. The morphological analysis was made by means of a stereomicroscop and the anatomical analysis in paradermic and transversal sections was made with hydroxide ethyl methacrylate inclusion. A pharmacobotanical study lead shows that leaves are characteristically 4-leaflets, the leaflets present themselves with 0,5 to 1,2 cm length and 0,5 to 1 cm wide and obovate shape. Has cuticle plain and plicate, stomata are present in both epidermal faces, mucilaginous cells and does not present epicuticular formations. The mesophyll is heterogeneous of dorsiventral type and the vascular bundles are of closed collateral type. In distal region occurs secretory cells of rounded shape with bright content in bluish-green tint. The stem can reach up to 1 meter high and 0,15 to 0,40 cm in diameter, and is characteristically angular, striate, glabrous, greenish, slightly branched at the base and with abundant oblong and translucent glands. The stem epidermis present itself uniestratified, with thick cuticle, stomata are very pronounced, rounded mucilaginous glandular formations with internal content bluish and does not present trichomes. The cortex is formed by 1-5 layers of parenchyma cells with different sizes, the phloem is protected by, a group of up to six layers of sclerenchyma fibers which present themselves as an interrupted ring surrounding the vascular system. The central cylinder characterized the sifonestelic continuous ectofolic type. The pith is composed of parenchyma cells with the intercellular space of meatus type, and does not present any internal content. These morphoanatomical singularities are important and relevant in pharmacobotanical works, because together, can be used in authenticity from various vegetal species. Anti-inflammatory activity of water-ethanol extract of *Poiretia tetraphylla* in a model of induction of formation of granulomatous tissue in rats and also hepatic and renal toxicity through serum dosage were evaluated. After treatment period, the animal group treated with *P. tetraphylla* showed an inhibitory inflammation process of $31,20 \pm 4,71\%$, while the nimesulide group, the pattern, obtained an inhibitory inflammation process of $21,42 \pm 6,52\%$, when compared to negative control 20% of propylene glycol ($p < 0,05$). The serum levels of AST, ALT and creatinine in all groups of animals, do not shown significant elevation when compared to negative control. Anti-inflammatory activity exhibited for *P. tetraphylla* could be associated to his composition which contains saponines and flavonoids.

Key Words: *Poiretia tetraphylla*. Pharmacobotanical. Anti-inflammatory. Saponines. Flavonoids.

LISTA DE FIGURAS

2 REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1- <i>Poiretia tetraphylla</i> (Poiret) Burkart.....	16
FIGURA 2- Folíolo de <i>Poiretia tetraphylla</i>	17
FIGURA 3- Seção transversal da lâmina caulinar de <i>Poiretia tetraphylla</i>	18
FIGURA 4- Esquema da formação do processo inflamatório agudo.....	25
FIGURA 5- Processo inflamatório evidenciando as vias do ácido araquidônico.....	26

3 PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

3.1 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA 1

FIGURE 1 - General aspect of <i>Poiretia tetraphylla</i> (Poir.) Burk.....	32
FIGURE 2 - General aspect of <i>Poiretia tetraphylla</i> leaflets.....	33
FIGURE 3 - Detail of leaflet blade from <i>Poiretia tetraphylla</i>	33
FIGURE 4 - Leaflet paradermal sections of <i>Poiretia tetraphylla</i>	33
FIGURE 5 - Leaflet transversal section of <i>Poiretia tetraphylla</i> , making evident the adaxial face epidermis.....	33
FIGURE 6 - Leaflet transversal section of <i>Poiretia tetraphylla</i> , making evident the medium nervous region.....	33
FIGURE 7 - <i>Poiretia tetraphylla</i> , making evident lateral region.....	34
FIGURE 8 - Transversal section from leaf of <i>Poiretia tetraphylla</i> , making evident distal region.....	34

3.2 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA 2

FIGURE 1 - General aspect of <i>Poiretia tetraphylla</i> (Poir.)Burk.....	40
FIGURE 2 - Stem transversal section of <i>Poiretia tetraphylla</i> (Poir.) Burk.....	41
FIGURE 3 - Stem transversal sections of <i>Poiretia tetraphylla</i> (Poir.) Burk., making evident cortical and medullary region.....	41

3.3 PUBLICAÇÃO CIENTÍFICA 3

FIGURE 1 – Anti-inflammatory activity.....	50
FIGURE 2 – Blood levels of AST(U/L), ALT(U/L) and creatinine (mg/dL).....	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs – Anti-inflamatório não esteroidal

ALT – Alanina aminotransferase

AST – Aspartato aminotransferase

COX – Ciclo-oxigenase

PGs – Prostaglandinas

TXs – Tromboxanos

TNF – Fator de necrose tumoral

OMS – Organização Mundial da Saúde

RDC – Resolução Diretoria Colegiada

TFG – Taxa de filtração glomerular

cm – Centímetros

mm – Milímetros

µm – Micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Leguminosae.....	14
2.2 Morfoanatomia.....	15
2.3 Metabólitos secundários.....	19
2.4 Atividades biológicas em plantas.....	21
2.4.1 Edema de pata em ratos.....	22
2.4.2 Granuloma.....	23
2.5 Processo inflamatório.....	24
2.6 Anti-inflamatório não esteroidal.....	27
2.7 Parâmetros Bioquímicos.....	28
3 PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS.....	30
3.1 Publicação científica.....	31
3.2 Publicação científica.....	39
3.3 Publicação científica.....	45
4 DISCUSSÃO GERAL.....	58
5 CONCLUSÕES.....	62
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

1 INTRODUÇÃO

As plantas são utilizadas pela população como medicina alternativa desde a antiguidade, sendo a base de sistemas medicinais no mundo todo. As plantas medicinais representam fontes riquíssimas de diversidade natural e há muitos séculos passaram a ser procuradas pelo homem para estabelecer a cura ou o alívio de doenças (CALIXTO, 2005; YESILADA, 2005; SAKLANI; KUTTY, 2008). É considerado planta medicinal todo vegetal que contém em um de seus órgãos, ou em toda planta, compostos que possam ser empregados para fins terapêuticos, sendo amplamente utilizados na medicina alternativa (AMOROZO, 2002).

Os produtos naturais destacam-se como grandes fontes de recursos terapêuticos, isto se deve aos diversos compostos químicos, que são oriundos principalmente do metabolismo secundário vegetal. Os produtos encontrados na natureza revelam uma vasta diversidade em termos de estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas (WALL; WANI, 1996). Dados revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SOEJARTO, 1996). No Brasil, a flora tem sido objeto de estudo desde os tempos da colonização, sendo utilizada em nosso país para o tratamento de doenças devido a influência da cultura indígena, africana e européia (MARTINS et al., 2000).

O conhecimento da medicina tradicional, junto a técnicas modernas, tem acelerado o processo de descoberta de drogas derivadas de plantas (ITOKAWA et al., 2008; KOLEWE; GAURAV; ROBERTS, 2008; SAKLANI; KUTTY, 2008). A indústria farmacêutica pode encontrar nas plantas medicinais novas estruturas químicas a serem descobertas e, diante disso, desenvolver fármacos mais eficazes para o tratamento ou prevenção de patologias (CALIXTO, 2005). Em nosso país, o uso da fitoterapia vem aumentando, crescendo cerca de 15% ao ano, enquanto o crescimento anual de medicamentos sintéticos gira em torno de 3 a 4% (SIMÕES et al., 2004).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza-se de práticas tradicionais nos cuidados básicos à saúde (CARVALHO et al., 2008). Desse contingente, 85% usam plantas ou preparados destas. Estes países possuem aproximadamente 70% das espécies vegetais do mundo (BRASIL, 2006). Matsuda (2002) relata que o Brasil é detentor de cerca de 20% do total de espécies vivas do planeta, e destas, em torno de 60 mil têm potencial medicinal, motivo pelo qual a flora brasileira tem sido objeto de estudos de âmbito internacional.

Nos países industrializados, 25% de todos os medicamentos prescritos são originários de plantas, sendo responsáveis pelo desenvolvimento de 44% de todos os novos fármacos (HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003). Em estudo realizado por estimativa, Matsuda (2002) demonstrou que 50% dos europeus e mais da metade dos norte-americanos fazem uso de fitoterápicos. No Brasil, estima-se que o comércio de fitoterápicos seja em torno de 5% do mercado total de medicamentos.

Atualmente, encontram-se facilmente informações sobre plantas medicinais, as quais carecem de fundamento científico, tornando assim seu uso um risco à saúde. A pesquisa com plantas visa à descoberta de princípios ativos que possam servir como base no desenvolvimento de novos fármacos, fornecer condições para a prática de uso racional e produção de fitoterápicos com qualidade, eficácia e segurança.

A análise morfoanatômica que comprove a autenticidade de uma espécie vegetal é de suma importância, visto que nossa flora é extremamente rica e apresenta espécies anatomicamente similares, o que pode comprometer o uso seguro de produtos naturais. Estudos de controle de qualidade da matéria-prima na indústria farmacêutica fornecem subsídios que contribuem na padronização dos insumos vegetais, permitindo a diferenciação inclusive entre espécies botanicamente próximas (DI STASI, 1996).

Atividades biológicas são necessárias para comprovar a ação terapêutica de plantas de acordo com seu uso popular e para que possam ser utilizadas na medicina tradicional. A atividade anti-inflamatória de espécies vegetais merece destaque, já que os anti-inflamatórios são os melhores exemplos da grande relação entre processos primitivos de seleção de plantas medicinais, a farmacologia e a química moderna (SILVA; BERNARDO; PARENTE, 2000). A resposta inflamatória representa um dos mecanismos de defesa do nosso organismo. O modelo de indução da formação do tecido granulomatoso em ratos é utilizado para a avaliação da reação inflamatória crônica (SPECTOR, 1969). Este modelo é amplamente empregado para a avaliação de substâncias anti-inflamatórias (SWINGLE; SHIDEMAN, 1972). Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) representam uma classe de fármacos comumente usados em processos inflamatórios, apresentando boa eficácia terapêutica (EICKHOFF; ENGERS; MUELLER, 1995). A dosagem sérica de marcadores bioquímicos específicos permite a avaliação da toxicidade de substâncias que possam causar danos hepático e renal. Os níveis séricos de transaminases são úteis no diagnóstico de hepatopatias (BITTENCOURT; DA SILVA, 1985; ANDRIOLO; BORGES, 1989). A determinação de creatinina é um teste de triagem utilizado na avaliação da função renal (GUYTON; HALL, 2002).

Plantas são comumente utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de afecções estomacais, processos inflamatórios, microbianos, vasculares e outros; dentre estas plantas encontra-se *Poiretia tetraphylla*, na qual foi verificada a presença de óleos voláteis, taninos, flavonóides e traços de saponinas nas folhas, caules e flores (BURKART, 1943; JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988).

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk., é uma espécie que ocorre no Brasil (Goiás ao Rio Grande do Sul), Argentina, Paraguai e Uruguai (MÜLLER, 1984). É conhecida popularmente como erva-de-touro-miúda ou chá-dos-pampas, fazendo parte da família Leguminosae, subfamília Papilionoideae. Papilionoideae é a maior subfamília da família Leguminosae, destacando-se também a espécie *Abrus precatorius* L., árvore africana que possui em sua constituição química saponinas triterpênicas, com renomada atividade anti-inflamatória (CARVALHO, 1990; DEL SOL et al., 2006). *P. tetraphylla* é utilizada popularmente como tônica para o tratamento de impotência, em afecções estomacais, como sudorífera, anti-inflamatória, anti-helmíntica e inseticida (BURKART, 1943).

Para contribuir com o controle farmacobotânico e comprovar o uso popular de *P. tetraphylla*, teve-se como objetivos estabelecer parâmetros morfoanatômicos das partes aéreas e avaliar a atividade anti-inflamatória do extrato hidroetanólico através do modelo de indução da formação do tecido granulomatoso em ratos, bem como avaliar marcadores bioquímicos de toxicidade hepática e renal, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e creatinina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leguminosae

A partir do século XIX a humanidade se deparou perplexa diante do diverso e inesgotável arsenal terapêutico presente nas plantas medicinais devido a descoberta de substâncias ativas, que em estado natural ou após sofrerem processos de transformação química, possuem atividade biológica, confirmadas pelo uso popular e comprovadas cientificamente (MIGUEL; MIGUEL, 2004). Dentre as inúmeras famílias de plantas utilizadas pelo ser humano, as leguminosas são úteis e apresentam valor econômico, sendo cultivadas desde a antiguidade para fins alimentícios e medicinais; como as espécies *Arachis hypogaea* L. (amendoim), *Pisum sativum* L. (ervilha), *Phaseolus vulgaris* L. (feijão) e *Glycine max* L. (soja).

Leguminosae constitui uma das maiores famílias das Angiospermas, sendo cosmopolita com representantes tropicais herbáceos e lenhosos (BURKART, 1952; SOUZA; LORENZI, 2005). Com cerca de 730 gêneros e 19400 espécies, representa aproximadamente 9,4% das eudicotiledôneas. Esta família é dividida em três subfamílias e 36 tribos. A subfamília Caesalpinioideae compreende quatro tribos e cerca de 2.250 espécies, a Mimosoideae quatro tribos e cerca de 3.270 espécies e a subfamília Papilionoideae 28 tribos e cerca de 13.800 espécies. No Brasil foram catalogados 188 gêneros e 2.100 espécies. Para o Rio Grande do Sul, estima-se um total de 69 gêneros e 293 espécies distribuídos em 44 gêneros e 174 espécies de Papilionoideae, 13 gêneros e 91 espécies de Mimosoideae e 12 gêneros e 28 espécies de Caesalpinioideae (LIMA, 2000; LEWIS et al., 2005; STEVENS, 2006).

Papilionoideae é a maior subfamília de Leguminosae e apresenta inúmeras espécies utilizadas como medicinais. *Abrus precatorius* L., é uma árvore africana que possui em sua constituição química saponinas triterpênicas com atividade anti-inflamatória e uma lectina, abrina, reconhecida como uma das substâncias químicas de maior toxicidade (CARVALHO, 1990; DEL SOL et al., 2006). *Desmodium adscendens* (Sw.) DC., utilizada pelos povos indígenas da Amazônia como contraceptivo e antimalárico (BRANDÃO et al., 1992). *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth., as cascas do caule são utilizadas em vários problemas relacionados ao sistema nervoso, como sedativo, casos de ansiedade e tosse de origem nervosa (CRUZ, 1995; CORRÊA; SIQUEIRA-BATISTA; QUINTAS, 1998).

Em Papilinoideae mais de 200 alcalóides quinolizidínicos foram identificados e, juntamente com isoflavonóides e taninos, prestam-se como marcadores taxonômicos e possuem propriedades medicinais (GOTTLIEB; KAPLAN; BORIN, 1996; KITE, 2003). Nesta subfamília, foram relatadas a presença de vários tipos de amins, cumarinas, fenilpropanóides, antraquinonas, sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos, aminoácidos não protéicos, inibidores de proteases e lectinas, com atividades biológicas variadas como anti-inflamatória, antialérgica, hipotensora e analgésica (EASTERLING, 1993; KUO et al., 1995; DEL SOL et al., 2006).

O gênero *Poiretia* compreende 12 espécies distribuídas nas regiões equatoriais e subtropicais das Américas, tendo seu limite na Patagônia (BURKART, 1939; MÜLLER, 1984). Estas espécies são campestres e ocorrem principalmente em solos secos, pedregosos, gramíneos, arbustivos, mas também podem ocorrer em terrenos úmidos, no entanto, sempre em ambientes abertos e formando pequenas manchas (RAMBO, 1953; JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988).

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk. (Figura 1), é uma espécie que ocorre no Brasil Argentina, Paraguai e Uruguai, conhecida popularmente como erva-de-touro-miúda ou chá-dos-pampas (MÜLLER, 1984). Esta planta é uma erva a subarbusto ereto que pode atingir 1 metro de altura apresentando poucas ramificações na base. Suas inflorescências são terminais, em forma de cacho com flores amareladas, e ocorrem nos meses de outubro a abril. Os frutos são legumes do tipo sâmara de até 2,5 cm de comprimento e ocorrem nos meses de dezembro a abril. Foi verificada a presença de óleos voláteis, taninos, flavonóides, e traços de saponinas nas folhas, caules e em suas flores (JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988). O óleo volátil das folhas, conforme Silva (2005) é constituído principalmente por sesquiterpenos (17-30 % de nerolidol-E, 5-16 % de β -cariofileno e 3-9 % de germacreno-D).

2.2 Morfoanatomia

A indústria farmacêutica tem dado ênfase no estabelecimento de padrões macro e microscópico de drogas vegetais, objetivando um controle de qualidade desses insumos com baixo custo, tempo reduzido dos ensaios e alto grau de reprodutibilidade. Esta prática contempla as Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) nº. 17 e nº. 48 as quais instituíram e normatizaram os procedimentos para o registro e produção de fitoterápicos (MARQUES, 1999).



Figura 1. *Poiretia tetraphylla* (Poiret) Burkart. Escala: 5 cm.

Análises macro e microscópicas de diferentes órgãos de uma planta são procedimentos que ressaltam detalhes e variações de um tecido vegetal, contribuindo para a correta diferenciação entre espécies e, conseqüentemente, no controle de qualidade de drogas vegetais e/ou produtos *in natura*.

Durante anos, inúmeros trabalhos com plantas medicinais sem a correta determinação taxonômica das espécies estiveram disponíveis em publicações científicas. Isto ocorria, muitas vezes, pelo fato de não ser reconhecida a importância da botânica e da efetiva identificação das plantas para serem utilizadas como medicinais. Para evitar estes problemas, a abordagem interdisciplinar apresenta-se como uma estratégia para a otimização dos estudos (DI STASI, 1996).

Características morfoanatômicas de órgãos como o caule, flores, frutos, sementes, folhas e folíolos (Figura 2) são caracteres importantes de espécies vegetais usados como marcadores taxonômicos para a correta identificação botânica, em análise macroscópica e microscópica.



Figura 2. Foliolo de *Poirertia tetraphylla*. Escalas: 0,5 cm; 0,05 cm. Fonte: Royer (2010).

A análise macroscópica permite uma visão geral de um determinado órgão vegetal, podendo ser realizado a olho nu ou com auxílio de estereomicroscópio. As características dos diferentes órgãos vegetais, como consistência, cor, forma, odor, superfície, tamanho, espessura, enervação devem ser consideradas.

Quando a análise macroscópica de um órgão vegetal não é suficiente, recorre-se à análise microscópica, através de secções histológicas (Figura 3) contando com o auxílio de equipamentos, como o microscópio. Órgãos como caule e folha são analisados de forma aprofundada, tornando o estudo relevante na busca pela correta identificação de uma espécie vegetal.

Autores como Cuter (1987) e Dickison (2000) destacam que a presença ou falta da cutícula e das formações epicuticulares e suas características, são marcadores taxonômicos relevantes na diferenciação de espécies vegetais. As características cuticulares, como os tricomas, são ressaltadas mesmo na planta pulverizada, possibilitando sua identificação. No gênero *Stryphnodendron*, a espécie *S. Polyphyllum* Mart. possui tricomas em toda epiderme foliar, diferenciando-a de *S. Adstringens* (Mart.) Coville e *S. obovatum* Benth., que possuem foliólulos glabros (SANCHES, 2007). As particularidades que ocorrem no mesofilo também podem ser utilizadas na autenticidade do material botânico. *Bauhinia forficata* L. tem mesofilo heterogêneo, em alguns pontos da lâmina foliar aparece somente o parênquima paliádico (INDIANARA, 2008). Nas espécies *Indigofera suffruticosa* Mill. e *I. truxillensis* Kunth. o mesofilo é dorsiventral (BARROS; TEIXEIRA, 2008).

Outras estruturas anatômicas como cristais, idioblastos e células secretoras são importantes na diagnose vegetal. A forma, tamanho, localização e composição química dos

cristais, são características relevantes na taxonomia e na autenticidade de drogas vegetais (WALKER, 2008).

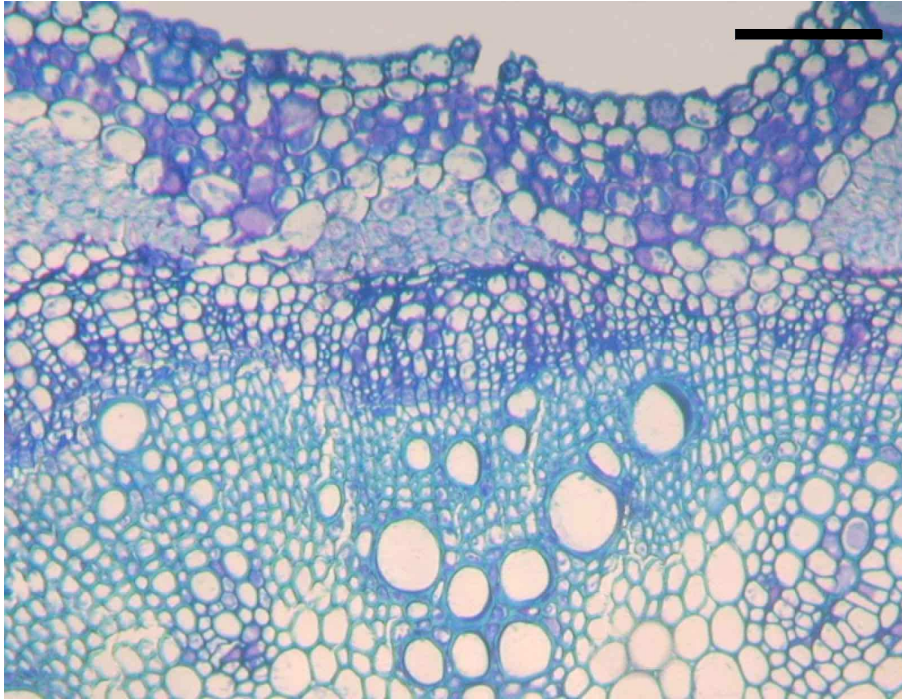


Figura 3. Seção transversal do caule de *Poiretia tetraphylla*. Escala: 15 µm. Fonte: Royer (2010).

As drusas presentes na lâmina foliar de *Phyllanthus niruri* L. são usadas para diferenciá-la de *P. tenellus* Roxb., que não apresenta cristais em sua estrutura (GARCIA et al., 2004). Genua e Hillson (1985) destacam para o gênero *Dieffenbachia* a presença de drusas e a ausência de ráfides na epiderme foliar de *D. picta* Schott, diferindo-na de *D. maculata* (Lodd.) D. Don., pois esta apresenta drusas e ráfides no mesofilo e na epiderme foliar.

As células mucilaginosas têm valor taxonômico por apresentarem localização histológica constante, característica importante na identificação de inúmeras espécies vegetais e, conseqüentemente, na autenticidade de um determinado material botânico (COSTA, 1982; SAJO; RUDALL, 2002).

As folhas de *P. tetraphylla* apresentam caracteres morfoanatômicos coincidentes com os da família Leguminosae, folhas pinadas; 1 a 5 folíolos; pecíolo glabro, normalmente mais longo que a ráquis foliar; além de pequenas estípulas frequentemente presentes na base lateral dos folíolos (JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988; ROYER et al., 2010).

2.3 Metabólitos secundários

Metabolismo é o conjunto de reações que ocorrem continuamente em cada célula de um organismo. Os compostos químicos formados, degradados ou simplesmente transformados, são chamados metabólitos. O metabolismo primário compreende as várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas de nutrientes em unidades constitutivas essenciais da célula de um ser vivo, quer seja ele animal ou vegetal. Os vegetais, entre outros, apresentam um metabolismo composto por enzimas, coenzimas e organelas capazes de transformar e acumular substâncias que não estão diretamente relacionadas à manutenção da vida do organismo produtor, mas também atuam como elementos de diferenciação e especialização. A este conjunto dá-se o nome de metabolismo secundário, cujos produtos resultantes garantem vantagens para a sobrevivência e perpetuação da espécie, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor (SANTOS, 1999).

Diversas funções são atribuídas a esta classe de metabólitos, dentre elas a defesa contra herbívoros, proteção contra raios ultravioleta, atração de polinizadores e de animais dispersores de sementes. Por serem fatores de interação entre organismos, os metabólitos secundários podem apresentar atividades biológicas de importância na área farmacêutica. Estes, devido sua grande diversidade, têm despertado interesse de pesquisadores como promissora fonte de moléculas úteis ao homem, apresentando substâncias ativas que se encontram sob a forma de complexos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam as ações sobre o organismo humano (DI STASI, 1996; SANTOS, 1999).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários; compostos fenólicos, terpenos e alcalóides que variam de acordo com a família, gênero e espécie, sendo muitas vezes um marcador taxonômico (BENNETT; WALLSGROVE, 1994). A diversidade química dos metabólitos como os flavonóides, taninos e saponinas avaliados em vários modelos de inflamação atuando sobre diferentes mediadores, tem demonstrado atividade anti-inflamatória (RECIO et al., 1995; LYSS et al., 1997; PELZER et al., 1998).

Flavonóides são compostos fenólicos amplamente distribuídos no reino vegetal, foram descritos em torno de 8.000 destes compostos, dos quais mais de 4200 são flavoinoídicos (RICE-EVANS; PACKER, 2003; SIMÕES et al., 2004). Os flavonóides dividem-se nas subclasses antocianina, catequina, flavona, flavonona, flavonol e isoflavona (ROSS; KASUN, 2002). São encontrados em leguminosas, frutas, folhas e flores, podem ser isolados e identificados através de diferentes métodos como cromatografia, espectrofotometria e ressonância magnética nuclear (HARBONE; WILLIAMS, 2000).

Inúmeras atividades biológicas benéficas para o ser humano são atribuídas aos compostos fenólicos entre elas a atividade anti-inflamatória. Os flavonóides possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre sistemas biológicos, como anticarcinogênico, anti-inflamatório, antialérgico, antiviral entre outros. Estes compostos, abundantes entre os metabólitos secundários vegetais, são importantes, uma vez que sua síntese não ocorre na espécie humana (SIMÕES et al., 2004).

Investigações bioquímicas nos mecanismos de ação dos flavonóides têm mostrado que esses compostos podem inibir uma ampla variedade de enzimas, como também previnem a síntese de prostaglandinas. Muitos dos efeitos anti-inflamatórios propostos para os flavonóides e compostos fenólicos, interferem no metabolismo final do araquidonato. O ácido araquidônico juntamente com o ácido linoleico são compostos das células membranares com a tarefa de proteger a célula. A liberação de ácido araquidônico está intimamente relacionada aos sistemas enzimáticos da ciclo-oxigenase (COX) e a 5-lipo-oxigenase, os quais os flavonóides tem a habilidade de inibir, sugerindo contribuir para a atividade anti-inflamatória (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000).

Plantas contendo saponinas são empregadas há muito tempo, como a *Saponaria officinalis* L. e *Quillaja saponaria* Molina. As saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos, sendo moléculas anfipáticas, ou seja, possuem uma parte lipofílica e uma parte hidrofílica. Apresentam a propriedade de reduzir a tensão superficial da água devido ao seu comportamento anfifílico, formando espuma, caracterizando sua ação como detergente e emulsificante (TREASE; EVANS, 1996). Saponinas são importantes substâncias utilizadas na fabricação de cortisona (anti-inflamatório), hormônios sexuais e hormônios renais, elas aumentam a absorção e utilização de certos minerais (MARTINS et al., 2000). Têm a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolípídeos de membranas determinando propriedades biológicas importantes como alterações da permeabilidade da membrana celular (SIMÕES et al., 2004). Diversas atividades biológicas já foram associadas a elas, dentre as quais podemos ressaltar as atividades antimicrobianas, hipocolesterolemiantes, expectorantes, diuréticas e anti-inflamatórias (HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003). A atividade anti-inflamatória desta classe de substâncias foi relatada para as espécies *Aesculum hippocastanum* L. (castanheira da Índia) e *Glycyrrhiza glabra* L. (alcaçuz). Esta atividade está relacionada a um mecanismo misto, onde há inibição de degradação de corticóides, atividade corticomimética, o que interfere no metabolismo de mediadores inflamatórios atuando no sistema complemento e a inibição de produtos derivados da via do ácido araquidônico (SCHENKEL, et al., 2004).

2.4 Atividades biológicas em plantas

As plantas medicinais da flora brasileira são utilizadas com pouca ou até nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas. Contudo, temos plantas consagradas pelo uso popular e cientificamente comprovadas como a *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *Glycyrrhiza glabra* L. (espinheira santa e alcaçuz) usadas em casos de gastrite, *Cordia verbenaceae* DC. e *Curcuma longa* L. (erva baleeira e curcuma) em casos de dor e reumatismos, *Mikania glomerata* Spreng. e *Mentha pulegium* L. (guaco e poejo) para bronquite, *Passiflora alata* Curtis (maracujá) para ansiedade e insônia, entre outros (SIMÕES et al., 1995).

A procura por estas plantas, em relação aos medicamentos sintéticos, tem aumentado a cada dia, por serem mais econômicas e na maioria das vezes possuir menos efeitos colaterais (GALDINO, 2006). As tendências globais de preocupação com a biodiversidade e as ideias de desenvolvimento sustentável desperta o interesse na busca de novos fitoterápicos trazendo perspectivas ao estudo de um maior número de plantas medicinais brasileiras. O emprego destas para fins terapêuticos requer o uso de plantas selecionadas e cientificamente comprovadas como medicinais, garantindo segurança e eficácia.

A população tem utilizado extratos de plantas para o tratamento das mais diversas patologias, portanto, há necessidade de pesquisas que comprovem as atividades e toxicidade destes extratos. Os vegetais apresentam compostos químicos, que podem sofrer modificações estruturais, tornando-se ativos potenciais para a indústria farmacêutica (DI STASI, 1996). Atualmente são utilizados mais de 120 fármacos obtidos do vegetal, sendo em sua maioria anti-inflamatórios, analgésicos, vitaminas, hormônios e substâncias ativas no sistema nervoso central (KOROLKOVAS; BURKHALTER, 1982; SILVA; BERNARDO; PARENTE, 2000).

Modelos de avaliação de atividade biológica e toxicidade empregados na pesquisa e desenvolvimento de medicamentos desde os ensaios laboratoriais, triagens, testes pré-clínicos e clínicos, aprovação em órgãos competentes até a comercialização, fazem parte da investigação de plantas medicinais (SOUZA et al., 2003).

Os medicamentos disponíveis que aliviam a dor de condições inflamatórias são efetivos apenas em uma parcela de pacientes. No geral, essas drogas apresentam baixa eficácia e efeitos colaterais (BASBAUM, 1999; MENDELL; SAHENK, 2003). Produtos naturais apresentam menores efeitos colaterais e surgem como fonte terapêutica para o desenvolvimento de novas drogas que possam aliviar certas condições inflamatórias (MC CURDY; SCULLY, 2005; BATISTA et al., 2010).

O primeiro anti-inflamatório fitoterápico desenvolvido inteiramente no Brasil foi obtido a partir do óleo essencial de *Cordia verbenacea* DC. O óleo analisado por método *in vivo* caracterizou a inibição de citocinas inflamatórias como o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucina- β e redução da expressão ciclo-oxigenase-2 (COX-2) (FERNANDES et al., 2007). Este fitoterápico consiste de um anti-inflamatório tópico de grande efetividade nos processos reumáticos, nevralgias e artríticos, não provocando lesões gástricas. Em testes clínicos, este fitomedicamento demonstrou ser tão eficaz e seguro para os casos de tendinite crônica e dor miofascial quanto o diclofenaco dietilamônio (RAMOS, 2005; SERTIÉ et al., 2005).

A atividade anti-inflamatória de espécies vegetais tem sido investigada através de modelos de avaliação biológica como edema de pata e indução da formação do tecido granulomatoso em ratos.

2.4.1 Edema de pata em ratos

O modelo da medida do edema descrito por Winter; Risley; Nuss (1962) se baseia no reenchimento do volume deslocado pela pata do animal (rato) por uma bomba de infusão peristáltica. A pata do rato é introduzida até a região tibio-társica em uma cuba contendo solução de lauril-sulfato de sódio a 0,2% mantendo-se por 20 segundos. Decorrido este tempo, retira-se a pata do animal e registra-se o tempo de reenchimento da cuba. Uma pata edemaciada desloca volume de líquido muito superior em relação ao de uma pata normal. O cálculo do deslocamento do líquido produzido pela pata inflamada é realizado subtraindo-se o tempo de reenchimento da cuba da pata edemaciada pelo tempo promovido pela pata controle. O experimento é realizado utilizando-se o pletismômetro, que registra a medida da pata do animal após administração das substâncias.

O modelo edema de pata em ratos é uma metodologia comprobatória de atividade anti-inflamatória em plantas, sendo utilizado para a avaliação desta por diferentes pesquisadores.

Hugo et al., (2011) avaliando a atividade do óleo de *Euterpe oleraceae* Mart., constatou que após 6 horas houve inibição máxima da formação do edema de 29,84% comparado ao controle negativo, tendo a indometacina como padrão.

Já Fábio et al., (2005), observou que o extrato das partes aéreas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. utilizando-se carragenina como agente inflamatório e indometacina como controle, mostrou-se significativo, inibindo a formação do edema em 48,7%, enquanto o grupo controle inibiu em 58,6%.

Solidago microglossa DC., segundo Yui; Linarelli; Zelante (1998) através do modelo edema de pata em ratos, demonstrou ação anti-inflamatória significativa do extrato hidroalcoólico reduzindo o processo inflamatório em 48%, enquanto o padrão indometacina mostrou uma inibição de 70%.

Citral, um dos componentes de *Cymbopogon winterianus* Jowitt, avaliado pelo mesmo modelo, mostrou inibição significativa na migração de leucócitos após 4 horas de estímulo ($p < 0,001$), sendo utilizado dexametasona como padrão (LUCINDO et al., 2011).

2.4.2 Granuloma

Granulomas são nódulos de tecido compostos por fibroblastos, capilares e macrófagos modificados, podendo também ser encontrado necrose central. Na formação do granuloma, existe uma proliferação inicial de macrófagos, que podem sofrer fusões e dar origem a células multinucleadas, ocupando a região central. Na região periférica, existem linfócitos T, responsáveis pela hipersensibilidade tardia. Vasos sanguíneos e fibroblastos proliferam nesta região, nutrindo e dando suporte para a estrutura granulomatosa (FLORES; ZAPPELLINI; PRADO-FRANCESCHI, 1993).

No modelo de indução da formação do tecido granulomatoso ocorrem três fases após a implantação dos *pellets* de algodão nos animais. A primeira fase, chamada de fase transudativa, envolve as 3 primeiras horas após a implantação; a segunda, chamada de exudativa, ocorre entre 3 e 72 horas; e a terceira fase, chamada de proliferativa, acontece após as 72 horas até o sexto dia (SWINGLE; SHIDEMAN, 1972). Ao final do sexto dia, o granuloma é caracterizado pela formação de uma cápsula fibrosa vascularizada, que contém fibroblastos e células mononucleares infiltrantes. Assim, os resultados são interpretados de forma que quanto menor a cápsula fibrosa estiver desenvolvida, maior é o efeito do anti-inflamatório testado (BAILEY et al., 1982).

O modelo do granuloma é um modelo inflamatório crônico, sendo descrito como confiável para a avaliação da atividade anti-inflamatória de diversas substâncias inclusive AINEs (ESTÉVEZ, 2009).

Segundo Ricardo et al., (2008) *Agave sisalana* Perrine apresentou uma diminuição de $20,4 \pm 1,32$ mg do tecido granulomatoso para o extrato hidrolisado, semelhante ao controle dexametasona ($20,2 \pm 2,18$ mg).

A administração diária do óleo fixo de *Euterpe oleraceae* Mart. via oral, durante seis dias, inibiu de forma significativa a formação do tecido granulomatoso, 36,66%, quando

comparado ao grupo controle água. A dexametasona, um potente anti-inflamatório esteroidal, inibiu a formação do edema em 78,7% (FAVACHO, 2009).

Fabio et al., (2005) observou que administrações diárias do extrato das partes aéreas de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. inibiu a formação do tecido granulomatoso em 6,2% em comparação ao grupo controle água ($P < 0,05$).

2.5 Processo inflamatório

A dor é uma modalidade sensorial com função protetora que em muitos casos representa o único sintoma para a diagnose de uma doença. Através da história, o homem tem utilizado diferentes formas de terapia para o alívio da dor, e plantas medicinais merecem destaque por seu uso popular (MELO et al., 2010). Um exemplo é *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae), espécie da qual a morfina é isolada, que é considerada o protótipo das drogas opióides analgésicas (ALMEIDA; NAVARRO; BARBOSA-FILHO, 2001).

Inflamação é a reação do tecido vivo vascularizado à injúria local frente a um estímulo exógeno ou endógeno capaz de gerar agressão celular (CONTRAN et al., 1997). A inflamação pode ser aguda, com duração relativamente curta apresentando os eventos vasculares como exsudação plasmática e neutrófilos; ou crônica, com duração mais longa e associada à presença de linfócitos, macrófagos, proliferação de vasos sanguíneos e necrose tecidual (RANG; DALLE; RITTER, 1997). Segundo Wanmacher e Ferreira (1995), a inflamação aguda refere-se à resposta inicial a lesão tecidual; é mediada pela liberação de mediadores químicos e, em geral, precede o desenvolvimento da resposta imune. Esta resposta acontece quando as células imunologicamente competentes são ativadas, reagindo a organismos estranhos ou substâncias antigênicas (Figura 4).

A inflamação é caracterizada por sua complexidade e dinamismo, podendo ser desencadeada por agentes físicos, químicos ou biológicos, provocando distúrbios na membrana celular, ocasionando a ativação da fosfolipase A2, liberação de ácido araquidônico e seus metabólitos e enzimas lisossômicas. O metabolismo do ácido araquidônico dá origem a substâncias biologicamente ativas como prostaglandinas (PGs) e tromboxanos (TXs), importantes na fisiopatologia da inflamação. As enzimas lisossômicas têm potente atividade citotóxica e destroem células vizinhas, liberando assim novas enzimas. Os leucócitos são atraídos por quimiotaxia ao local da lesão por mediadores inflamatórios (LEME; SCHAPOVAL, 1975; BRODY, 1997; CONTRAN et al., 1997; RANG et al., 2003).

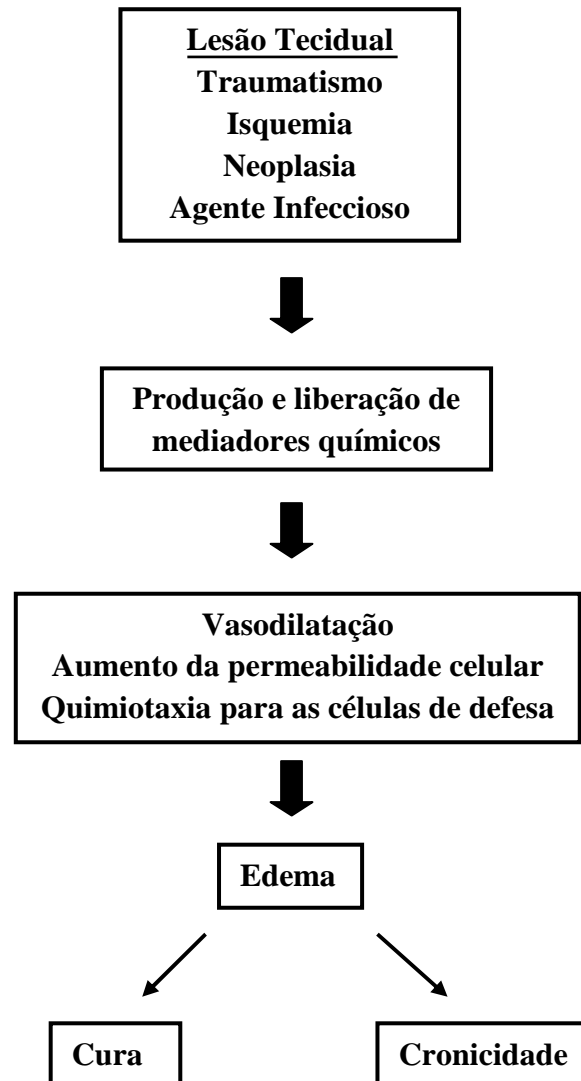


Figura 4. Esquema da formação do processo inflamatório agudo.

Após a lesão tecidual ocorre a inflamação aguda, a resposta imune e a inflamação crônica. A inflamação aguda refere-se à resposta inicial e é mediada pela liberação de substâncias como histamina, serotonina, bradicinina, PGs e leucotrienos, precedendo a resposta imune. Essas substâncias, em especial a histamina, aumentam o fluxo sanguíneo local e também a permeabilidade dos capilares venosos, o que permite que grandes quantidades de líquido e de proteína sejam transportadas da circulação para os tecidos, resultando em edema localizado (KATZUNG, 1998). A resposta imune aparece quando as células imunologicamente competentes são ativadas. Na inflamação crônica há a liberação de mediadores, como o interferon e interleucina, que não são proeminentes na resposta imune.

Quando há dor, destruição do osso e da cartilagem, como no caso da artrite reumatóide, ocorre a presença dos mediadores (GUYTON; HALL, 1997).

Os eicosanóides englobam os leucotrienos, PGs, prostacilinas e TXs, e derivam do ácido araquidônico, sendo obtidos de fosfolípidos de membrana pela ação da fosfolipase e sintetizados novamente por estimulação celular. O ácido araquidônico pode seguir duas vias enzimáticas (Figura 5) que levam a produção de mediadores da inflamação; a via iniciada pela COX que produz PGs, prostacilinas e TXs, e a via lipo-oxigenase que leva a produção de leucotrienos (KUMMER; COELHO, 2002). Metabólitos secundários como os flavonóides e saponinas são agentes capazes de inibir a via do ácido araquidônico ou seus compostos (MONCADA; VANE, 1979; SAMUELSSON, 1983; MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000).

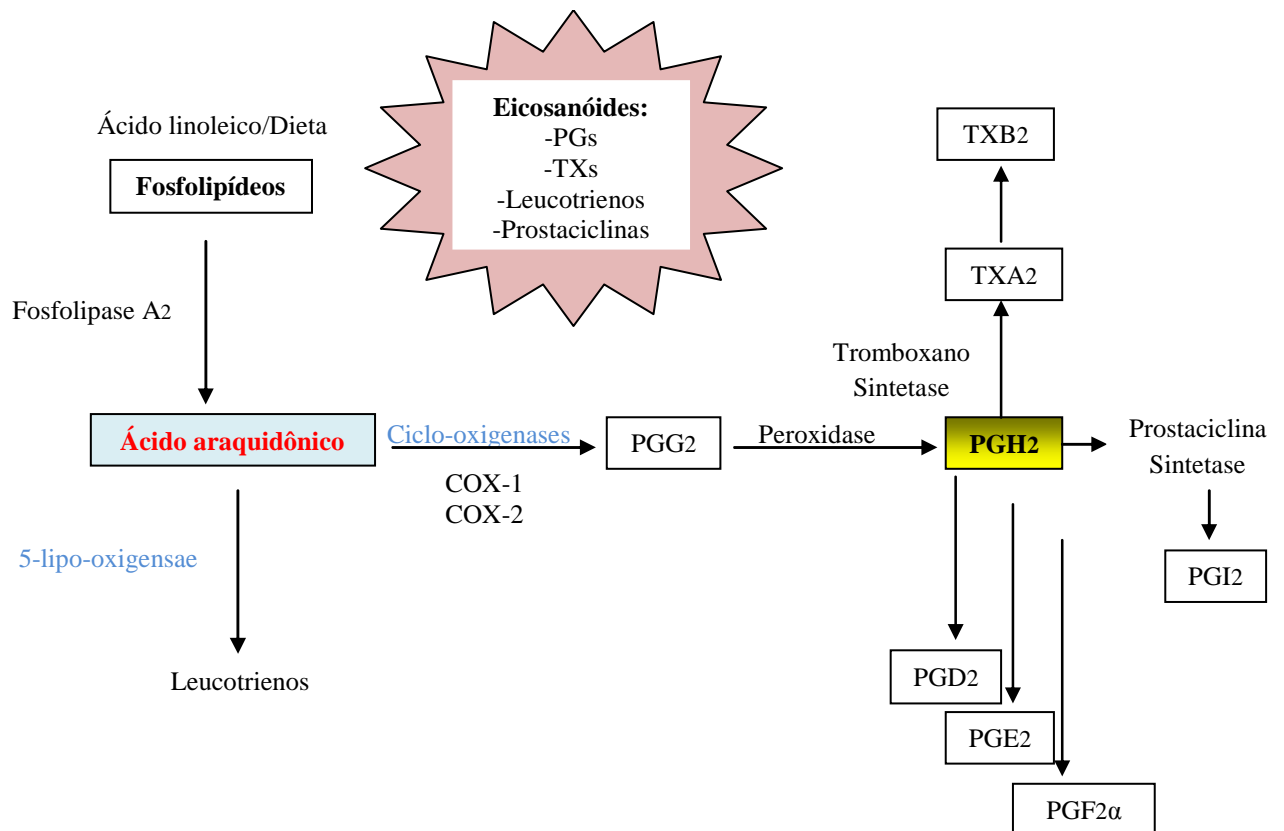


Figura 5: Processo inflamatório evidenciando as vias do ácido araquidônico.

2.6 Anti-inflamatório não esteroidal

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), juntamente com os corticóides, estão entre os principais agentes terapêuticos utilizados no mundo (RANG et al., 2003). Eles são utilizados por idosos no tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e outras condições inflamatórias crônicas. Nos Estados Unidos, mais de 70 milhões de AINEs são prescritos, no Brasil, cerca de 80 milhões de pessoas se automedicam, sendo que os AINEs são os mais utilizados (SAKATA; ISSY, 2008).

Anti-inflamatório é o agente que reduz ou previne um ou mais componentes de uma reação inflamatória. O controle farmacológico da inflamação pode ser exercido diretamente sobre as células inflamatórias ou antagonizando a liberação de mediadores (BRODY, 1997; RANG et al., 2003).

Os AINEs possuem propriedades analgésicas, antitérmica, anti-inflamatória e antitrombótica. Sua ação decorre na inibição da síntese de prostaglandinas e tromboxanos, efetuada mediante a inativação das ciclo-oxigenases constitutiva (COX-1) e induzível (COX-2). A COX-1 é responsável pela produção fisiológica das prostaglandinas em sítios gástricos e renais. A COX-2 surge nos locais da inflamação, sendo responsável pela produção de mediadores da inflamação. A inibição da COX-1 é, em parte, responsável por alguns dos efeitos adversos dos AINEs, como a toxicidade renal e gastrintestinal; outros efeitos adversos atribuídos a estes anti-inflamatórios são reações cutâneas, distúrbios na medula óssea e distúrbios hepáticos (RANG et al., 2003; FUCHS; WANNMACHER; FERREIRA, 2004).

A nimesulida é um droga anti-inflamatória não esteroidal utilizada em patologias inflamatórias crônicas. A eficácia dos AINEs, como a nimesulida, em reduzir a dor, é resultado da capacidade em inibir as ciclo-oxigenases 1 e 2, enzimas importantes na síntese de prostaglandinas, que contribuem para a sensibilização do nociceptor (SCHOLER et al., 1986; ESCRIBANO et al., 2003; DE LUCIA et al., 2007).

A busca por AINEs eficazes e com baixa incidência de efeitos gástricos vem sendo temática de vários estudos em todo o mundo. No final da década de 90, foi desenvolvida e avaliada através de estudos pré-clínicos e clínicos, uma classe de anti-inflamatórios inibidores seletivos para COX-2, apresentando menor incidência de lesão gástrica em relação aos AINEs convencionais (JACKSON; HAWKEY, 1999; PAIET; VAN RYN, 1999; WALLACE; MA, 2001).

2.7 Parâmetros Bioquímicos

Um importante ditado da toxicologia é a “dose faz o veneno”, ou seja, qualquer substância química pode ser tóxica se a dose ou exposição forem altas (SIPES; DART, 1997; DINIZ, 2000). Existem plantas e medicamentos alternativos, em sua maioria ainda não estudados adequadamente, sobretudo no que concerne à toxicologia. A informação inadequada, juntamente com pouca fiscalização, leva consumidores a fazer uso de plantas medicinais capazes de causar graves reações colaterais (FELTROW; AVILA, 2000).

Os efeitos tóxicos de substâncias podem atingir todos os sistemas funcionais, sendo o fígado o mais prejudicado, provavelmente devido a dois importantes fatores, sua posição anatômica, que o torna mais vulnerável, e sua função, que condiciona maior concentração celular de compostos a serem transformados e seus metabólitos (MENDES, 1988).

As transaminases correspondem a um importante grupo de enzimas que catalisam a transferência de um grupo amino de um aminoácido para um cetoácido. Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são as transaminases mais importantes no diagnóstico clínico de diversas alterações metabólicas (COLES, 1974). A enzima ALT é encontrada em grandes quantidades no fígado, e em pequenas quantidades no coração, músculo e rins. Quando o fígado sofre algum dano ou inflamação, os níveis de ALT no sangue normalmente se elevam, dessa forma, ela é usada como marcador de danos hepáticos. A AST é encontrada em muitos tecidos do corpo incluindo o coração, músculos, rins, cérebro e pulmões, estando presente também no fígado. Quando um tecido do corpo ou um órgão, como o coração ou o fígado, sofre algum dano, uma quantidade de AST é liberada na corrente sanguínea, estando diretamente relacionada com a extensão da lesão tecidual.

ALT é uma enzima puramente citosólica enquanto a AST está presente no citosol e na mitocôndria (80%) dos hepatócitos. Em um dano hepatocelular leve, a forma de aminotransferase predominante no soro é a citoplasmática, enquanto em lesões graves ocorre a liberação da enzima mitocondrial, elevando assim a relação ALT/AST. A diferença entre essas aminotransferases auxilia no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas (MILLER; GONÇALVES, 1999; MOTTA, 2003).

Diversos processos patológicos envolvendo o fígado podem causar elevações proporcionalmente distintas nas enzimas hepáticas, devido à variação na distribuição de cada enzima específica no lóbulo hepático. Na clínica de pequenos animais, anormalidades nas atividades séricas das enzimas hepáticas são consideradas indicadores sensíveis de perturbações hepatobiliares (SHARON; CENTER, 1995).

Um importante biomarcador para avaliar a função renal é a creatinina. A depuração renal de creatinina tem uma longa história como marcador da taxa de filtração glomerular (TFG) (SMITH, 1951). Após a introdução de técnicas analíticas incorporando diálise de fluxo contínuo ou detergentes que permitem dosagens diretas no soro, a dosagem de creatinina sérica se tornou o biomarcador de escolha para a TFG. Esta dosagem permite o monitoramento preciso da progressão de uma doença (SPENCER, 1984; LEVEY; CORESH; GREENE, 2007).

Qualquer biomarcador sérico de TFG deve obedecer as leis da física, ou seja, com o declínio desta taxa, a concentração sérica deve aumentar. O fato de a relação entre a concentração sérica e a TFG ser uma função recíproca explica como mudanças relativamente pequenas na concentração, que ocorrem em estágios iniciais do declínio da função renal, são seguidas de aumentos acelerados. A creatinina é produzida como resultado da desidratação não enzimática da creatina muscular. A quantidade de creatinina excretada diariamente é proporcional à massa muscular e é pouco afetada pela dieta, exercício, idade ou sexo, tendo velocidade relativamente constante. A concentração de creatinina sérica é uma excelente medida para avaliar a função renal (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002).

3 PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS

3.1 Publicação científica 1

Leaf Morphoanatomy of *Poiretia tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae).

3.2 Publicação científica 2

Stem Morphoanatomy of *Poiretia tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae).

3.3 Publicação científica 3

Assessment of anti-inflammatory activity and biochemical parameters of *Poiretia tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae). *Submitted manuscript*

ABSTRACT

Anti-inflammatory activity of 70% water ethanol extract of *Poiretia tetraphylla* in a model of induction of granulomatous tissue and also hepatic and renal toxicity through serum dosage in rats were evaluated. During 6 consecutive days, orally, by gavage, were administered 1.5 mL doses, 3 times a day, of water-ethanol extract of the aerial parts of *P. tetraphylla*. We used nimesulide (5mg/Kg/day) as positive control and 20% of propylene glycol (v/v) as negative control. After treatment period, the test group treated with *P. tetraphylla* showed an inhibitory inflammation process of $31.20 \pm 4.71\%$ while the control animal group treated with nimesulide obtained an inhibitory inflammation process of $21.42 \pm 6.52\%$, when compared to negative control 20% of propylene glycol ($p < 0.05$). The serum levels of AST, ALT and creatinine in all groups of animals, do not shown significant elevation when compared to negative control. Anti-inflammatory activity exhibited for *P. tetraphylla* could be associated to his composition which contains saponines and flavonoids.

KEY WORDS: *Poiretia tetraphylla*, anti-inflammatory, granuloma, saponines, flavonoids.

Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: juniorroyer@hotmail.com

INTRODUCTION

Plants have been used by population as alternative medicine since antiquity, being the basis of medicinal systems in whole world. Medicinal plants represent very rich sources of natural diversity, standing out as major agents of therapeutic resources. In addition to synthesizing new compounds and have fewer side-effects, they also have a lower cost compared to synthetic drugs, thus making them a target for the production of new drugs (CALIXTO, 2005; GALDINO, 2006).

The knowledge of traditional medicine with modern techniques has accelerated the discovery drugs process derived from plants (ITOKAWA et al., 2008; KOLEWE; GAURAV; ROBERTS, 2008; SAKLANI & KUTTY, 2008). Approximately 25% of all available modern drugs are derived directly or indirectly from plants. Among these examples are morphine and salicylate, which allowed the development of the major classes of analgesic drugs: opioids and nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) (CALIXTO, 2005).

Inflammatory response is a defense mechanism of our body. The inflammation word may be appropriately referred as an inflammatory cascade that is intended to repair the tissue in which there is damage or cells destruction (CARVALHO, 2004). In addition to combating the pathogenic agent and to prevent their spread to other parts of the body, the inflammatory response is intended to eliminate products resulting from cell destruction, thus promoting optimal conditions for repair injured tissue (TEDGUI & MALLAT, 2001). Nonstereoidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) represent a drugs class commonly used in inflammatory processes, and shows good therapeutic efficacy (EICKHOFF; ENGERS; MUELLER, 1995). This drugs class has anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effect and is often used to treat acute and chronic inflammatory states. Most NSAIDs are considered safe, but can cause side-effects. Nimesulide, a drug belonging to NSAIDs class, is commonly used in acute or chronic inflammatory processes (DE LUCIA, 2007).

The granuloma model in rats is used for assess chronic inflammatory reaction (SPECTOR, 1969). NSAIDs and corticosteroids also interfere in the process of granuloma formation by suppressing the initial infiltration of neutrophils (BAILEY, 1982). The granulomatous tissue induction is a widely used method for the assessment of anti-inflammatory substances (SHIDEMAN & SWINGLE, 1972).

The serum concentration of specific enzymes allows evaluation of hepatic and renal toxicity. Serum aminotransferases are reliable indicators of functional or structural alteration

of liver cells and the relationship aspartate aminotransferase: alanine aminotransferase (AST/ALT) are useful in the diagnosis of liver diseases (BITTENCOURT, 1985; ANDRIOLO, 1989). The determination of serum creatinine is a screening test used to assess renal function (GUYTON & HALL, 2002).

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk. is a specie that occurs in Brazil (Goiás to Rio Grande do Sul), Argentina, Paraguay and Uruguay (MÜLLER, 1984). It is popularly known as erva-de-touro-miúda or chá dos pampas, making part of the Leguminosae family, *Papilionoideae* subfamily. Phytochemical studies of Leguminosae species have mainly aimed to the purification of flavonoids, tannins and alkaloids. In *Papilionoideae* subfamily, quinolizidine alkaloids and isoflavonoids have economic value, and more than 200 quinolizidine alkaloids have been identified (KITE, 2003; GOTTLIEB et al., 1996). *Papilionoideae* is the biggest Leguminosae subfamily, standing out species such as *Abrus precatorius*, an African tree which contains in its chemical constitution a triterpenic saponine, with renowned anti-inflammatory activity (DEL SOL et al., 2006; CARVALHO, 1990).

P. tetraphylla is commonly used in traditional medicine as stimulating, sudoriferous and in stomach disorders, besides presenting insecticidal and anti-inflammatory activity (JANKE et al., 1988; BURKART, 1943). JANKE et al., (1988), verified the presence of volatile oils, tannins, flavonoids, and traces of saponines in leaves, stem and flowers of *P. tetraphylla*. ROYER et al., (2010; 2011), standing out the unique morphoanatomical features of the aerial parts of *P. tetraphylla* that contribute to the plant authenticity.

Due to constant growth in the use of plants in human therapy and an alternative to anti-inflammatory synthetic drugs, this study aimed to prove anti-inflammatory activity of 70 % ethanol extract from aerial parts of *P. tetraphylla* by testing granulomatous tissue induction method *in vivo* and to evaluate the liver and kidney toxicity through serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and creatinine.

MATERIAL AND METHODS

Botanical material and obtain the plant extract:

Poiretia tetraphylla (Poir.) Burk. was collected in January 2011 in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. A sample of the plant material was identified and deposited at the Natural and Exact Sciences Center of Biology Department of Federal University of Santa Maria (UFSM), as voucher SMDB 13074. The aerial parts of *P. tetraphylla* were dried, crushed and macerated in 70% water ethanol solution. The extract was concentrated in a rotary evaporator and then lyophilized.

The induction of granulomatous tissue test:

To evaluate the anti-inflammatory effects of water-ethanol extract, the inhibiting of granulomatous tissue formation method induced by cotton cylinders, proposed by MEIER et al., (1950), modified by NIEMEGEREERS et al., (1975) and GERMANO et al., (1993) was adapted. The rats were kept in a vivarium of the Department of Industrial Pharmacy of UFSM with light and dark cycle of 12 hours and 22 ± 2 °C, free access to food and water. Were selected for experiment 18 male Wistar rats weighing between 170 and 200 g, they were randomly distributed into 3 groups of 6 animals, properly identified and placed in individual cages: positive control group (nimesulide - 5mg/kg/day), negative control (propylene glycol 20 % - v/v) and test group (extract of *P.tetraphylla* - 300mg/kg/day in propylene glycol 20%). The treatment was orally, by gavage, for six days, administering 1.5 ml divided into 3 daily doses of 0.5 ml at intervals of 4 hours. All procedures were performed according to recommendations of the International Committee of care of animals and in accordance with established national regulations for animal experimentation.

Pellets implantation:

In aseptic conditions the animals were anesthetized with urethane, dorsal longitudinal incision was made in each animal and a cylinder of white sterile cotton wool weighing 40 mg was implanted in the central dorsal region. The cylinder of cotton was previously cut, wrapped in aluminum and sterilized by autoclaving at 121 °C for 15 minutes. Immediately before implantation, were immersed in 30% of ampicillin. On the seventh day, animals were sacrificed with ether, the granuloma removed by dissection and dried in an oven at 60 °C for 24 hours. Then their gross weights were determined on an analytical balance. The weight of

granuloma was calculated as the difference between the initial and final weights and expressed in grams.

Biochemical tests:

The biochemical dosages were performed in all rats of granuloma test. At the end of treatment, 3 mL of blood were collected via cardiac puncture of the test group, positive control and negative control. These samples were centrifuged at 2800 rpm for 15 minutes to separate the serum. Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and creatinine were performed by use of standard methods on Cobas MIRA[®] automated analyzer with Bioclin and Labtest Kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

Contents of saponines:

The total saponines from aerial parts of *P. tetraphylla* were obtained by the method of NAMBA et al., (1974). From 8 g of powdered drug was carried out a hot extraction with methanol in Soxhlet for 8 hours. The resulting methanol extract was evaporated to dryness. The residue was dissolved in distilled water and repeatedly washed with ether, and then extracted with n-butanol saturated with water. The resulting butanol layer was repeatedly washed with water and evaporated to dryness, which was used as the total saponin.

Total flavonoids:

The method used to determine flavonoids was described by RIO (1996). The standard curve was constructed using rutin (10-300 µg/mL). The sample was used at a concentration of 0.4% and made the data interpolation.

Statistical analysis:

The continuous data were summarized as mean and standard deviation (SD), and comparisons between groups were performed with Student's *t* test. $P < 0.05$ was considered statistically significant (DIXON & MASSEY, 1969).

RESULTS AND DISCUSSIONS

After six consecutive days of oral administration by gavage of *P. tetraphylla*, nimesulide and propylene glycol 20%, the cotton pellets were removed, dried and weighted. The result showed a significant inhibition of the inflammatory process in animals group treated with *P. tetraphylla* extract. The control group animals treated with nimesulide had a process of inflammation inhibition of $21.42 \pm 6.52\%$, while test group treated with *P. tetraphylla* showed an inhibition process of $31.20 \pm 4.71\%$, when compared to negative control group propylene glycol 20% ($p < 0.05$), as shown in figure 1.

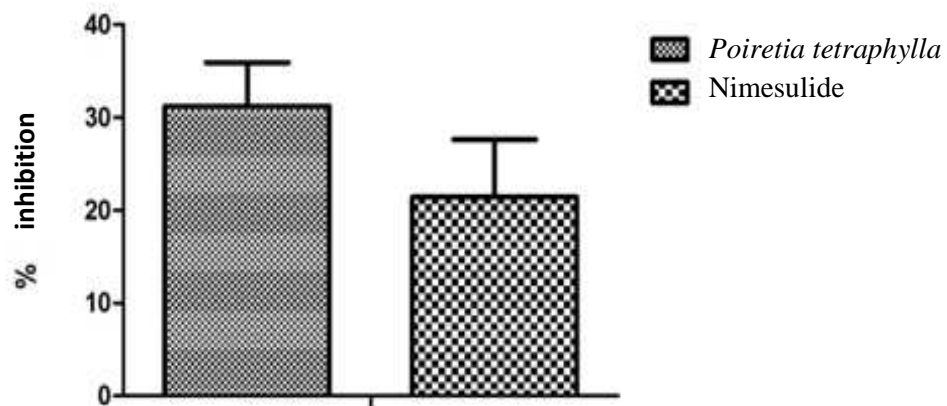


Figure 1. Anti-inflammatory activity. Percent (%) inhibition of the formation of granulomatous tissue in Wistar rats treated with *Poiretia tetraphylla* and nimesulide after 6 days of oral administration by gavage.

In plants of the Leguminosae family have been performed several tests to investigate the anti-inflammatory activity. As example we have *Bowdichia virgilioides*, a legume that is very abundant on Brazilian soil, which showed significant anti-inflammatory activity in carrageenan-induced paw edema model in rats by administering water-ethanol extract orally at 100 to 1000 mg/kg doses (WANDER et al., 2010). *Adenanthera pavonina*, a species which through the same model showed anti-inflammatory activity for its extract administered orally at doses of 200 and 400 mg/kg (ARZUMAND, A. et al., 2010).

For the same model evaluation of *P. tetraphylla*, induction the formation of granulomatous tissue, *Bouchea fluminensis* was tested. After the treatment of animals for 7 days, occurred a significant reduction in granuloma weight at the tested doses of 50 and 100 mg/ Kg of ethanol extract (PUPO, 2008). The same way, the ethanol extract of the aerial parts of *Pothomorphe umbellata* was tested, and inhibited significantly the formation of granulomatous tissue (PERAZZO, 2005).

The granuloma model in rats has been used to assess the chronic inflammatory reaction, and can also be used to assess sub-chronic or chronic inflammatory reaction in investigation of anti-arthritic substances (SPECTOR, 1969). This model evaluates the transudative and proliferative phase of chronic inflammation. Anti-inflammatory substances such as NSAIDs and nimesulide, interfere in the process of granuloma formation, suppressing the initial infiltration of neutrophils in granuloma (BAILEY, 1982).

The good results of anti-inflammatory activity presented by the water-ethanol extract of *P. tetraphylla*, may be associated with their composition, which contains saponines and flavonoids in its aerial parts. The amount of saponines found by the method of NAMBA et al., (1974), was 1.57%. According to MARTINS (2000), saponines are important substances used in the production of cortisone (anti-inflammatory) and sex hormones. Several biological activities were associated to saponines, among which we highlight antimicrobial, hypocholesterolemic, expectorant, diuretic and anti-inflammatory activities (HOSTETTMANN et al., 1995). The result obtained by the method of RIO (1996) showed a value of flavonoid equal to 547.59 µg of equivalent rutin/mL of crude extract of *P. tetraphylla*. Several tests in vivo and in vitro have proving and determining the wide range of biological activities of flavonoid compounds. According to RATTY & DAS (1998), among some of the pharmacological properties include the effects of flavonoids on biological systems: antioxidative capacity, vasodilatory effect, antiallergic action and anti-inflammatory activity. The property presented by flavonoids, to inhibit both the cyclooxygenase route and 5-lipoxygenase, in the arachidonate metabolism, may contribute to the anti-inflammatory properties (MIDDLETON et al., 2000).

The serum dosages of ALT, AST and creatinine were indicated in Table 1. There was no change of the AST and ALT enzymes, which allows us to say that there was no liver damage or tissue injury in animals tested with the respective doses of *P. tetraphylla*. In addition, no significant increase of creatinine levels were observed, demonstrating that there was no impairment of renal function at the tested doses. The AST enzyme is found in many body tissues including the heart, muscle, kidney, brain and lung. It is also present in the liver.

When body tissue or an organ such as the heart or liver is damaged, additional AST is released into the bloodstream. The amount of this enzyme in the blood is directly related to the extent of the tissue damage. ALT is found in large amounts in the liver, and small amounts of this enzyme are also found in the heart, muscle, and kidney. When the liver is injured or inflamed, the levels of ALT in the blood usually rise, therefore, this test is performed used to check for signs of liver disease. Creatinine is used to assess renal function. An elevated plasma level of creatinine provides evidence of renal overload, acute renal failure or increased protein catabolism (ADEBAYO et al., 2003).

	<i>P. tetraphylla</i>	Nimesulide	Propyleneglycol 20%
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$
AST (U/L)	140±15.51	130±14.26	149±49.38
ALT (U/L)	50±5.98	55±8.76	53±14.59
Creatinine (mg/dL)	0.17±0.06	0.18±0.09	0.21±0.06

Table 1 - Blood levels of AST, ALT and creatinine after orally administration by gavage of *Poiretia tetraphylla*, nimesulide and propylene glycol 20% in Wistar rats.

CONCLUSION

The results presented by water-ethanol extract of aerial parts of *Poiretia tetraphylla* showed that the extract was able to inhibit significantly the formation of granulomatous tissue in the in vivo model, and did not cause liver damage or kidney damage at the tested doses. This anti-inflammatory activity can be attributed to its composition, which shows saponines and flavonoids in their aerial parts, substances that are used in the inflammation process.

REFERENCES

- Adebayo, J. O.; Yakubu, M. T.; Egwim, E. C.; Owoyele, V. B.; Enaibe, B. U.(2003). Effect of ethanolic extract of *Khaya Senegalensis* on some biochemical parameters of Rat Kidney. **Journal of Ethnopharmacology**, 88, 69-72.
- Andriolo, A.; Borges, D.R. (1989). Enzimologia Clínica em doenças do fígado. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, 25, 95-8.
- Arzumand A.; Mohammad, A.; Chanchal, K. G.; Hashem, M.A.; Mesbah, U.A; Sitesh, C.B; Lutfun, N; Satyajit, D. S. (2010). **Brazilian Journal of Pharmacognosy** 20(6), 929-932.
- Bailey, P.J. (1982). Biochemical Study of the cotton pellets granuloma In Rats. **Biochemical Pharmacology**. 31, 1213-8.
- Barros, W. M., Rao, V.S.N., Silva, R.M., Lima, J.C.S, Martins, D.T.O. (2010). **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**. 82(3): 609-616.
- Bittencourt, P.L. & Silva, L.C. (1985). **Fígado e Drogas**. In: Fígado e Drogas: Compêndio de Hepatologia. 2 ed. São Paulo; p.264-85.
- Burkart, A. (1943) “**Las Leguminosas Argentinas Silvestres Y Cultivadas**”. Acme, Buenos Aires, pp.341-2.
- Calixto, J. B. (2005). Twenty-Five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal View. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134.
- Carvalho, H.F. (1990). **Ciência e Cultura** 42 (11): 884 – 93.
- Carvalho, J.C.T. (2004). **Fitoterápicos Anti-Inflamatórios: Aspectos Químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto, SP.
- De Lucia R; Oliveira-Filho, R.M; Planeta, C.S; Gallacci, M; Avellar, M. (2007). **Farmacologia Integrada**. 3.Ed. Rio De Janeiro: Revinter; p.339-62.
- Del Sol, F.G.; Nagano, C.S; Cavada, B.S.; Sampaio, A.H.; Sanz, L.; Calvete, J.J.. (2006). **Investigación y Ciencia** .361: 58-67.

Dixon, W. J. & Massey, F.J. (1969). **Introduction to Statistical Analysis**, Mcgraw-Hill, New York.

Eickhoff, W.M.; Engers, D.A.; Mueller, K.R. (1995). Nanoparticulate NSAID Composition. **Toxicology and Pharmacology**. v. 50, p. 283-289.

Galdino, V.S. (2006). **Das plantas medicinais e a biopirataria**. In: XV Congresso Nacional do CONPEDI, Manaus. Direito Ambiental Internacional e Proteção Jurídica dos Recursos Naturais. Manaus, 2006. p.1-19.

Germano, P.M.L.; Miguel, M.; Miguel, O.; Germano, M.I.S. (1993). Prevenção e controle das toxinfecções de origem alimentar. **Revista Higiene Alimentar**, v.7, n.27, p.6-11.

Gottlieb, O.R.; Kaplan, M.A.C.; Borin, M.R.M.B. (1996). **Biodiversidade: Um Enfoque Químico-Biológico**. Editora Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Guyton, A.C. & Hall, J. E. (2002). **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ª Ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan.

Hostettmann, K. & Marston. A. (1995). **Saponins**. (Chemistry and Pharmacology of Natural Products). Cambridge, New York: Cambridge University Press, 548p.

Itokawa, H.; Morris-Natschke, S.L.; Akiyama, T.; Lee, K.H. (2008). Plant derived natural product research aimed at new drug discovery. **Nature Medicine**, v. 62, p. 263-280.

Janke, H., Oliveira, M.L.A.A.; Siqueira, N.C.S. (1988). O gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae-Papilionoideae) no Rio Grande do Sul – taxonomia e aspectos farmacognósticos. **Iheringia, Série Botânica**. 38: 43-66.

Kite, G.C., N.C. Veitch, Grayer, R.J.; Simmonds, M.S.J. (2003). The use of hyphenated techniques in comparative phytochemical studies of legumes. **Biochemical Systematic Ecology** 31: 813-43.

Kolewe, M.E.; Gaurav, V.; Roberts, S.C. (2008). Pharmaceutically active natural product synthesis and supply via plant cell culture technology. **Molecular Pharmacology**, v. 5, p. 243-256.

Martins, E. R.; Castro, D. M.; Castellani, D. C.; Dias, J. E. (2000). **Plantas Medicinais**. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 220p.

- Meier, R.; Schuler, W.; Desaulles, P. (1950). Usnic Acid: Tumor inhibitor isolated from lichens. **Experimentia** 6: 469-471.
- Middleton, E.; Kandaswami, C.; Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant Flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**. 52, 673-751.
- Müller, C. (1984). Revisão do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para o Brasil. **Tese Unicamp**, Campinas.
- Namba, T.; Yoshizaki, M.; Tomomori, T.; Kobashi, K.; Mitsui, K.; Hase, J. (1974). Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs. **Planta Medica**, v25, n.1, p.28-38.
- Niemegeers, C.J. E.; Awouters, F.; Lenaerts, F.M.; Janssey, A.J. (1975). The activity of suprofen on nystatin-induced paw oedema In Rats. **Arzneimittel-Forschung** 23, 1516-1519.
- Perazzo, F.F.; Souza, G.H.B.; Lopes, W; Cardoso, L.G.V.; Carvalho, J.C.T.; Nanayakkara, N.P.D; Bastos, J.K. (2005). **Journal of Ethnopharmacology**. Volume 99, Issue 2, 3, Pages 215-220. June.
- Pupo, S. C.; Davison, G. P. ; Martinez-Sánchez, G. ; Takemura, O. S.; Silva, A. V. ; Gonçalves, G. F.; Delaporte, R. H. (2008). Avaliação da atividade antiinflamatória crônica do extrato etanólico de *Bouchea fluminensis* (Verbenaceae). **Latin American Journal Pharmacy**. 27 (3): 364-8
- Ratty, A.K. & Das, P.N. (1998). Effects of flavonoids on nonenzymatic lipid peroxidation: structure-activity relationship. **Biochemical Medicine and Metabolic Biology** 39, 69-79.
- Rio, R.G.W. (1996). Métodos de controle químico de amostras de própolis. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Royer, L.A.J.; Zanetti, G.D.; Necchi, R.M.M.; Manfron, M.P. (2010). Leaf Morphoanatomy of *Poiretia Tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae). **Latin American Journal Pharmacy**. 29 (5): 681-7.
- Royer, L.A.J.; Necchi, R.M.M.; Marin, A.; Zanetti, G.D.; Manfron, M.P. (2011). Stem Morphoanatomy of *Poiretia Tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae). **Latin American Journal Pharmacy**. 30 (4): 814-8.

- Saklani, A. & Kutty, S.K. (2008). Plant-derived compounds in clinical trials. **Drug Discovery Today**, v. 13, p. 161-171.
- Spector , W.G. (1969). The granulomatous inflammation exudates. **International Review of Experimental Phatology**. 8:1-55.
- Shideman, F. E. & Swingle, K. F. (1972). Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 226-234.
- Tedgui, A. & Mallat, Z. (2001). Anti-inflammatory mechanisms in the vascular Wall. **Circulation Research**, v. 88, p. 877-887.
- Wander, M. B., Vietla, S. N. R, Regilane, M. S., Joaquim, C. S. L., Domingos, T. O. M. (2010). Anti-inflammatory effect of the ethanolic extract from *Bowdichia virgilioides* H.B.K stem bark. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 82(3): 609-616.

4 DISCUSSÃO GERAL

A utilização de produtos naturais vem aumentando mundialmente. Para promover o uso desses produtos e usá-los de uma forma correta e eficaz, são necessários estudos que comprovem a autenticidade do material vegetal e sua eficácia de ação terapêutica. A análise farmacobotânica de uma planta contribui para a correta diferenciação entre espécies e o controle de qualidade de drogas vegetais (MARQUES; PETROVICK, 2004). Ensaio de atividade biológica *in vivo* de plantas medicinais são de extrema importância, pois comprovam o uso e fornecem parâmetros de toxicidade, constituindo um dos caminhos fundamentais para obtenção de fitoterápicos eficazes e seguros.

Os caracteres morfológicos das folhas de *P. tetraphylla* foram coincidentes aos da família Leguminosae que apresenta folhas pinadas, unifoliadas a 5-foliadas, pecíolos glabros, normalmente mais longos que a ráquis foliar, além de estípulas frequentemente presentes na base dos folíolos laterais (CRONQUIST, 1981; JOLY, 1998; SOUZA; LORENZI, 2005). As folhas 4-foliadas, o folíolo medindo de 0,5-1,2 cm de comprimento por 0,5-1,0 cm de largura e de forma obovada, as estípulas com 4 mm e o fruto do tipo sâmara são características singulares de *P. tetraphylla* que a diferenciam de outras espécies do mesmo gênero, anatomicamente muito próximas como a *P. latifolia*. Embora esta espécie apresente folhas 4-foliadas, possui folíolos elípticos com dimensões entre 2,2-5,0 cm por 1,5-4,0 cm, com estípulas de até 8 mm de comprimento e fruto do tipo lomento (JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988).

As características microscópicas são bons marcadores anatômicos para a autenticidade de drogas vegetais (WALKER et al., 2008). As células mucilaginosas e os estômatos de variados tipos, são caracteres frequentes em leguminosas. A presença de cutícula lisa e plicada, a falta de formações epicuticulares, e a presença de estômatos nas duas faces epidérmicas são caracteres relevantes na autenticidade de *P. tetraphylla*, a diferenciando dentro da família, pois segundo Metcalfe e Chalk (1950) leguminosas possuem cutícula verrucosa e projeções cuticulares, estômatos em uma das faces epidérmicas e raras vezes em ambas as faces. A presença ou falta de ornamentação cuticular, como a formação glandular, revela-se um importante caracter taxonômico (CUTTER, 1987; DICKISON, 2000). Em *P. tetraphylla*, a ocorrência de células mucilaginosas com tamanho e conteúdo diferenciado das demais células epidérmicas, é um caracter singular, portanto consistente na diagnose desta espécie.

P. tetraphylla não apresenta tricomas tectores ou glandulares na epiderme foliar. A ausência de tricomas é relevante, pois como a cutícula, os tricomas além de apresentarem padrões anatômicos muito variados, são preservados em plantas pulverizadas (GARCIA et al., 2004). Em *Stryphnodendron polyphyllum* (Leguminosae), os tricomas ocorrem por toda a epiderme foliar, sendo utilizado para diferenciá-la de *S. adstringens* e *S. obovatum*, pois estas outras espécies possuem folíolos glabros (SANCHES et al., 2007).

O padrão heterogêneo e assimétrico que o mesofilo assume em *P. tetraphylla*, por toda a extensão da lâmina foliar, é comum em Leguminosae (METCALFE; CHALK, 1950). O número de camadas constituintes do parênquima, a presença de cristais e o tamanho de suas células são caracteres que auxiliam na autenticidade de drogas vegetais. Na *Bauhinia forficata* (Leguminosae), ocorre um mesofilo heterogêneo, com a particularidade de apresentar apenas o parênquima paliádico em algumas regiões (INDIANARA et al., 2008). Em *Indigofera suffruticosa* e *I. truxillensis*, plantas da mesma família, o mesofilo também é dorsiventral em toda a extensão da lâmina foliar (BARROS; TEIXEIRA, 2008).

Outras estruturas anatômicas como cristais, idioblastos e estruturas secretoras são comuns em leguminosas (METCALFE; CHALK, 1950). Em *P. tetraphylla* não foi observado na estrutura foliar a ocorrência de idioblastos e cristais de oxalato de cálcio, que auxiliam na identificação da espécie. Já a presença de drusas em *Phyllanthus niruri*, uma Euphorbiaceae, é uma característica anatômica importante para diferenciá-la de *P. tenellus*, a qual não apresenta estas formações na lâmina foliar (GARCIA et al., 2004). Estruturas secretoras são observadas em inúmeras espécies vegetais nas mais diferentes famílias, ocorrendo em *P. tetraphylla* na região distal da lâmina foliar. As células secretoras apresentam conteúdo de coloração azul-esverdeada, uma singularidade marcante; em *Syzygium cumini* (Myrtaceae), embora estas estruturas ocorram próximo à epiderme e em ambas as faces da lâmina foliar, o conteúdo é amarelado (MIGLIATO et al., 2007).

O feixe vascular de *P. tetraphylla* é do tipo colateral fechado como ocorre em *B. forficata* e em *I. suffruticosa* e *I. truxillensis* (BARROS; TEIXEIRA, 2008; INDIANARA et al., 2008). *S. cumini*, espécie de outra família, também possui feixes vasculares do tipo colateral, porém na forma de arco (MIGLIATO et al., 2007).

O caule de *P. tetraphylla* atinge até 100 cm de comprimento por 0,15 a 0,40 cm de diâmetro, é do tipo angular, estriado, glabro, esverdeado, ligeiramente ramificado na base e com abundantes glândulas oblongas e translúcidas, diferindo-a de *P. latifolia*, que apesar de ser anguloso, estriado, glabro, esverdeado e possuir glândulas oblongas e translúcidas, possui dimensões maiores (JANKE; OLIVEIRA; SIQUEIRA, 1988).

A epiderme caulinar de *P. tetraphylla* é uniestratificada, com cutícula espessa, estômatos evidentes, formações glandulares mucilaginosas arredondadas com conteúdo azulado e ausência de tricomas, características marcantes para a diferenciação com outras espécies da mesma família, como *Acacia podalyriifolia*, que apresenta cutícula estriada, parede celular espessa, sem formações glandulares e presença de tricomas (DUARTE, 2005).

O córtex de *P. tetraphylla* é composto de 1 a 5 camadas de células parenquimáticas com variados tamanhos, o floema é protegido por uma camada de fibras esclerenquimáticas contendo até seis camadas, as quais apresentam-se na forma de anel interrompido envolvendo o sistema vascular o que pode ser evidenciado em outras espécies da mesma família como *Dahlstedtia pinnata* e *D. pentaphylla* que apresenta o córtex contendo aproximadamente 10 camadas de células clorofiladas. O cilindro central é do tipo sifonostélico contínuo ectofólico, ou seja, apresenta o floema exclusivamente do lado de fora da região do xilema, e os vasos são tipicamente separados por raios medulares, contrastando com *D. pinnata* e *D. pentaphylla* que tem o sistema vascular arredondado do tipo colateral fechado (TEIXEIRA; GABRIELLI, 2000). A medula é composta por células parenquimáticas com espaços intercelulares do tipo meato, sem nenhum conteúdo interno, o que contrasta com *I. suffruticosa* e *I. truxillensis* que apresentam medula composta por células parenquimáticas com conteúdo amilífero e presença de grãos de proteína (BARROS; TEIXEIRA, 2008).

Estas singularidades são importantes e relevantes em trabalhos de morfoanatomia, pois em conjunto são usadas para estabelecer a autenticidade de diferentes espécies vegetais.

O modelo de formação do tecido granulomatoso em ratos é utilizado para avaliar a reação inflamatória crônica (SPECTOR, 1969). Substâncias anti-inflamatórias como a nimesulida, um AINE, interfere no processo de formação do granuloma suprimindo a fase inicial de infiltração de neutrófilos (BAILEY, 1982).

O extrato de *P. tetraphylla* demonstrou uma significativa inibição do processo inflamatório em animais tratados por gavagem oral no modelo de indução da formação do tecido granulomatoso. Nos animais tratados com nimesulida, anti-inflamatório usado como padrão, houve uma redução do processo inflamatório de $21,42 \pm 6,52\%$, enquanto o grupo tratado com *P. tetraphylla* mostrou uma inibição de $31,20 \pm 4,71\%$ quando comparados ao controle negativo propilenoglicol 20% ($p < 0,05$).

A atividade anti-inflamatória do extrato de *P. tetraphylla* pode ser atribuída à presença de saponinas e flavonóides em sua composição química. O teor total de saponinas determinada para esta espécie foi de 1,57 %, sendo estas importantes substâncias utilizadas na produção de cortisona, um anti-inflamatório (MARTINS et al., 2000).

Os flavonóides dosados no extrato de *P. tetraphylla* apresentaram valor igual a 547,59 µg de equivalente de rutina/mL, estes como inibem a via da ciclo-oxigenase e da 5-lipo-oxigenase, contribuem juntamente com as saponinas para a atividade anti-inflamatória (MIDDLETON; KANDASWAMI; THEOHARIDES, 2000).

Através do mesmo modelo de avaliação do processo inflamatório, *Bouchea fluminensis* e *Pothomorphe umbellata*, inibiram de forma significativa a formação de tecido granulomatoso (PERAZZO et al., 2005; PUPO et al., 2008).

Sertié et al., (2005) avaliaram a atividade anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico das folhas de *C. verbenacea* em modelo animal por via oral. O extrato exibiu resultados similares aos da nimesulida e dexametasona, inibindo de forma significativa o edema, essa ação anti-inflamatória foi atribuída aos flavonóides e ao óleo volátil α -humuleno, presentes no extrato.

O fígado é, provavelmente, o órgão sujeito às maiores concentrações dos princípios ativos, portanto a avaliação sérica das enzimas AST e ALT são importantes indicadores de hepatotoxicidade. Avaliações bioquímicas que permitem verificar a toxicidade hepática e renal podem garantir o uso seguro de um fitoterápico. Os estudos de toxicidade realizados estão baseados no fato de *P. tetraphylla* ter sido avaliada por via oral.

O soro dos animais tratados com o extrato de *P. tetraphylla* não apresentou toxicidade hepática nas doses avaliadas para as enzimas AST e ALT que apresentaram valores respectivamente de $140 \pm 15,51$ e $50 \pm 5,98$ (U/L), quando comparadas com o grupo controle propilenoglicol 20%, que apresentou um resultado similar, $149 \pm 49,38$ e $53 \pm 14,59$ (U/L).

A creatinina é uma substância inócua no sangue, sendo produzida e eliminada de forma constante pelo organismo, um aumento da concentração desta no sangue é um sinal de insuficiência renal (GUYTON; HALL, 1997). A dosagem de creatinina para os animais tratados com *P. tetraphylla* foi de $0,17 \pm 0,06$ mg/dL, demonstrando resultado similar ao padrão propilenoglicol 20%, $0,21 \pm 0,06$ mg/dL. Dessa forma, como não ocorreu aumento nos níveis de creatinina sanguínea, podemos inferir que *P. tetraphylla* não apresentou toxicidade nas doses testadas.

Com a caracterização morfoanatômica de *P. tetraphylla* bem definida, são necessários novos ensaios biológicos, com substâncias isoladas, que corroborem sua atividade anti-inflamatória, bem como demonstrar outras ações farmacológicas de uso popular desta planta. Com o conjunto de todas essas informações validadas visa-se uma aplicação farmacêutica.

5 CONCLUSÕES

- ✓ As folhas 4-foliadas, o tamanho do folíolo e a forma obovada, e o fruto do tipo sâmara são características singulares de *P. tetraphylla*.
- ✓ A presença de cutícula lisa e plicada, a falta de formações epicuticulares como tricomas, e a presença de estômatos nas duas faces epidérmicas dos folíolos são caracteres relevantes na autenticidade de *P. tetraphylla*.
- ✓ Em *P. tetraphylla* a ocorrência de células mucilaginosas com tamanho e conteúdo diferenciado das demais células epidérmicas, é um caracter singular.
- ✓ Em *P. tetraphylla* não foi observado na estrutura foliar a ocorrência de idioblastos e cristais de oxalato de cálcio.
- ✓ As células secretoras observadas na região distal da lâmina foliar de *P. tetraphylla* apresentam conteúdo de coloração azul-esverdeada, uma singularidade marcante.
- ✓ A epiderme caulinar de *P. tetraphylla* é uniestratificada, com cutícula espessa, estômatos evidentes, formações celulares mucilaginosas arredondadas com conteúdo azulado e ausência de tricomas, características marcantes para a diferenciação com outras espécies.
- ✓ O cilindro central do tipo sifonostélico contínuo ectofólico e a medula composta por células parenquimáticas com espaços intercelulares do tipo meato sem nenhum conteúdo interno, são caracteres relevantes do caule de *P. tetraphylla*.
- ✓ *P. tetraphylla* mostrou significativa atividade anti-inflamatória pelo modelo de indução da formação do tecido granulomatoso.
- ✓ A atividade anti-inflamatória do extrato de *P. tetraphylla* pode ser atribuída à presença de saponinas e flavonóides em sua composição química.
- ✓ O extrato de *P. tetraphylla* não apresentou toxicidade hepática nas doses testadas no período avaliado.
- ✓ O extrato de *P. tetraphylla* não apresentou toxicidade renal nas doses testadas no período avaliado.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, 8: 310-322, 2001.

AMOROZO, M. C. M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Levenger, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 16, n. 2, p. 189-203, 2002.

ANDRIOLO, A.; BORGES, D. R. Enzimologia clínica em doenças do fígado. **Rev. Bras. Patol. Clin.**, 25: 95-8, 1989.

BAILEY, P. J. Biochemical study of the cotton pellets granuloma in rats. **Biochem. Pharmacol**, 31: 1213-8, 1982.

BARROS, G. M. C. C.; TEIXEIRA, S. P. **Rev. Bras. Farmacogn**, 18: 287-94, 2008.

BASBAUM, A. I. Spinal mechanisms of acute and persistent pain. **Reg Anesth Pain Med**, 24: 59-67, 1999.

BATISTA, P. A.; WERNER, M. F. P.; OLIVEIRA, E. C.; BURGOS, L.; PEREIRA, P.; SILVA BRUM, L. F.; STORY, G. M.; SANTOS, A. R. The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. **J Pain**, 11: 1222-1229, 2010.

BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defense mechanisms. **New Phytol**, 127: 617-633, 1994.

BITTENCOURT, P. L.; DA SILVA, L. C. Fígado e drogas. In: **Fígado e drogas: compêndio de hepatologia**. 2ª ed. São Paulo; p. 264-85, 1985.

BRANDÃO, M. G. L.; GRANDI, T. S. M.; ROCHA, E. M. M.; SAWYER, D. R.; KRETTLI, A. U. **J. Ethnopharmacol**, 36: 175-82, 1992.

BRASIL. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006.

BRODY, T. M. Inflamação. In: **Farmacologia Humana: da Molecular à Clínica**. 2ª ed., Guanabara Koogan, 1997.

BURKART, A. **Darviniana**, 3: 222-8, 1939.

BURKART, A. **Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas**. Acme, Buenos Aires, p. 341-2, 1943.

BURKART, A. **Las leguminosas argentinas silvestres y cultivadas**. Acme Agency, Buenos Aires. 1952.

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.

CARVALHO, H. F. **Ciência e Cultura**. 42: 884-93, 1990.

CARVALHO, A. C. B.; BALBINO, E. E.; MACIEL, A.; PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, 18:314-319, 2008.

COLES, E. H. Liver function. **Veterinary clinical pathology**. 2^a ed. Philadelphia: Saunders, 165p. 1974.

CONTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L.; SCHOEN, F. **Robbins patologia estrutural e funcional**. 6^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c. P.15 e 469. 1997.

CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L. E. **Plantas medicinais - do cultivo à terapêutica**. Editora Vozes, Petrópolis. 1998.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Vol. III 2^a ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1982.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. Ed. Columbia University, New York. 1981.

CRUZ, G. L. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Editora Bertrand, Rio de Janeiro. 1995.

CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal. Parte II – Órgãos. Experimentos e interpretações**. Editora Rocas, São Paulo. 1987.

DE LUCIA, R.; OLIVEIRA-FILHO, R. M.; PLANETA, C. S.; GALLACCI, M.; AVELLAR, M. C. W. **Farmacologia integrada**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; p.339-62, 2007.

DEL SOL, F.G.; NAGANO, C. S.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; SANZ, L.; CALVETE, J. J. **Investigación y Ciencia**, 361: 58-67, 2006.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: Arte e Ciência**. UNESP, São Paulo, 1996.

DICKISON, W. C. **Integrative plant anatomy**. Harcourt Academic Press, San Diego. 2000.

DINIZ, M. F. M. Ensaio toxicológico pré-clínico com as folhas de *Cissampelos sympodialis* Eichl. **Tese de Doutorado em Farmacologia**. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2000.

DUARTE, M. R. **Braz. J. Pharmacogn.**, 15: 71-6, 2005.

EASTERLING, J. J. **Ethnopharmacol**, 38: 63-77, 1993.

EICKHOFF, W. M.; ENGERS, D. A.; MUELLER, K. R. Nanoparticulate NSAID composition. **Toxicology and Pharmacology**, v.50, p.283-289, 1995.

ESCRIBANO, E.; CALPENA, A. C.; QUERALT, J.; OBACH, R.; DOMÉNECH, J. Assessment of diclofenac permeation with different formulations: anti-inflammatory study of a selected formula. **Eur J Pharm Sci**, 19: 203-10, 2003.

ESTÉVEZ, D. Q. Are selective COX-2 inhibitors a safe option in patients with intolerance to nonsteroidal anti-inflammatory drugs? **J Investig Allergol Immunol**, 19(4): 328-30, 2009.

FAVACHO, H. A. S. Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do óleo fixo de *Euterpe oleracea* Mart. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Pará, Brasil, 2009.

FELTROW, C. W.; AVILA, J. R. **Manual de medicina alternativa**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; DA CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-

caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenaceae*. **Eur. J. Pharmacol.**, 569: 228-236, 2007.

FLORES, C. A.; ZAPPELLINI, A.; PRADO-FRANCESCHI, J. Lipoxygenase derived mediators may be involved in in vivo neutrophil migration induced by *Bothrops erythromelas* and *Bothrops alternatus* venoms. **Toxicon**, 31: 1551-1559, 1993.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. **Farmacologia aplicada: fundamentos da terapêutica racional**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 692, 2004.

GALDINO, V. S. **Das plantas medicinais e a biopirataria**. In: XV Congresso Nacional do CONPEDI, Manaus. 2006, Manaus. Direito Ambiental Internacional e Proteção Jurídica dos Recursos Naturais. Manaus, p, 1-19, 2006.

GARCIA, C. M., ZANETTI, G. D.; ZAGO, A. M.; BITENCOURT, C. F.; HEINZMANN B. M. **Lat. Am. J. Pharm.**, 23: 67-70, 2004.

GENUA, J. M.; HILLSON, C. J. The occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in the leaves of fourteen species of Araceae. **Ann Bot**, 56: 351-361, 1985.

GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A. C.; BORIN, M. R. M. B. **Biodiversidade: um enfoque químico-biológico**. Editora Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1996.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 9ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 1014 p., 1997.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 10ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2002.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, 55: 481-504, 2000.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: Edufscar. 152 p., 2003.

HUGO, A. S. F.; OLIVEIRA, B. R.; SANTOS, K. C.; MEDEIROS, B. J. L.; SOUSA, P. O. J. C.; PERAZZO, F. F.; CARVALHO, J. C. T. Anti-inflammatory and antinociceptive activities

of *Euterpe oleracea* oil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 21(1): 105-114, Jan/Feb 2011.

INDIANARA C. E.; FERREIRA, R. A.; FILHO, V. C.; SILVA, C. M. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 18: 258-64, 2008.

ITOKAWA, H.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; AKIYAMA, T.; LEE, K. H. Plant derived natural product research aimed at new drug discovery. **Nature Medicine**, v. 62, p. 263-280, 2008.

JACKSON, L. M.; HAWKEY, C. J. Gastrointestinal effects of COX-2 inhibitors. **Expert Opin Investig Drugs**. 8(7):963-71, 1999.

JANKE, H.; OLIVEIRA, M. L. A. A.; SIQUEIRA, N. C. S. **Iheringia, Série Botânica** 38: 43-66, 1988.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. Editora Nacional, São Paulo. 777 p. 1998.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia: básica e clinica**. 6ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 854p, 1998.

KITE, G. C.; VEITCH, N. C., GRAYER, R. J.; SIMMONDS, M. S. J. **Biochem. Sys. Ecol.**, 31: 813-43, 2003.

KOLEWE, M. E.; GAURAV, V.; ROBERTS, S. C. Pharmaceutically active natural product synthesis and supply via plant cell culture technology. **Molecular Pharmacology**, v. 5, p. 243-256, 2008.

KOROLKOVAS, A.; BURKHALTER, J. H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxigenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v.52: 4 p., 498-512, 2002.

KUO, S. C.; CHEN, S. C.; CHEN, L. H.; WU, J. B.; WANG, J. P.; TENG, C. M. **Planta Med**, 61: 307-12, 1995.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica**, 4ª ed. São Paulo, Sarvier, 2006.

LEME, J. G.; SCHAPOVAL, E. E. S. Stimulation of the Hypotalamo-Pituitary-Adrenal Axis by Compounds Formed in Inflamed Tissue. In: **Br. J. Pharmac.**, Cap. 53, p.75-83. 1975.

LEVEY, A. S.; CORESH, J.; GREENE, T. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. **Clin Chem**, 53:766-72, 2007.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. **Legumes of the World**. Kew, Richmond, Royal Botanic Gardens. 2005.

LIMA, H. C. Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 151p. 2000.

LUCINDO, J. Q.; GUIMARÃES, A. G.; DE SANTANA, M. T.; ARAÚJO, B. E. S.; MOREIRA, F. V.; BONJARDIM, L. R.; ARAÚJO, A. A. S.; SIQUEIRA, J. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BOTELHO, M. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; SANTOS, M. R. V. Citral reduces nociceptive and inflammatory response in rodents. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 21(3): 497-502, May/Jun. 2011.

LYSS, G.; SCHMIDT, T. J.; MERFORT, I.; PAHL, H. L. Helenalin, and anti-inflammatory sesquiterpene lactone from *Arnica*, selectively inhibits transcription factor NF- κ B. **Biol. Chem**, 378: 951-61, 1997.

MARQUES, L. C. In: SIMÕES, C. et al., **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC. cap. 14. p. 259-289, 1999.

MARQUES, L. C.; PETROVICK, P. R. Normatização da Produção e Comercialização de Fitoterápicos no Brasil. In: Simões, C. M. O., et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC. 2004.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas Medicinais**. Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais. 220p. 2000.

MATSUDA, A. H. Fitoterápicos: complementos nutricionais ou medicamentos?
In: TORRES, E.A.F.S. **Alimentos do milênio: a importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde**. São Paulo: Signus, p., 31-41, 2002.

MC CURDY, C. R.; SCULLY, S. S. Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals). **Life Sci**, 78: 476-484, 2005.

MELO, M. S.; SENA, L. S. C.; BARRETO, F. J. N.; BONJARDIM, L. R.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LIMA, J. T.; DE SOUZA, D. P.; QUINTAS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive effects of citronellal in mice. **Pharm Biol**, 48: 411-416, 2010.

MENDELL, J. R.; SAHENK, Z. Painful sensory neuropathy. **N Engl J Med**, 348: 1243-1255, 2003.

MENDES, F. T. Fígado e drogas. In: Dani, R, Castro, LP. **Gastroenterologia clínica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 80, p.1035-1042, 1988.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford, Clarendon Press, Tomo 1. 1950.

MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews**, 52, 673-751, 2000.

MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. **Rev. Bras. Farmacogn.** 17(1): 94-101, 2007.

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de fitoterápicos**. Ribeirão Preto, São Paulo: Tecnomedd, 2004.

MILLER, O.; GONÇALVES, R. R. **Laboratório para o clínico**. 8ª edição. São Paulo: Editora Arheneu, p.607, 1999.

MONCADA, S.; VANE, J. R. Prostacyclin in perspective. In: **Prostacyclin**. ed. Vane, J.R. & Bergstrom. S. New York: Raven Press. 1979.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações**. 4ª ed. São Paulo: Robe, 419 p. 2003.

MÜLLER, C. Revisão do gênero *Poiretia* Vent. (Leguminosae) para o Brasil. **Tese de Mestrado**. Unicamp, Campinas. 1984.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Am J Kidney Dis**, v. 39, suppl. 1, p. S1-266, 2002.

PAIET, M.; VAN RYN, J. Measurement of differential inhibition of COX-1 and COX-2 and the pharmacology of selective inhibitors. **Drugs Today**. 35(4-5):251-65, 1999.

PELZER, E. I.; GUARDIA, T.; JUÁREZ, A. O.; GUERRERO, E. Acute and chronic anti-inflammatory effects of plant flavonoids. **Farmacol**, 53: 421-24, 1998.

PERAZZO, F. F.; SOUZA, G. H. B.; WALTER LOPES, L. G. V.; CARDOSO, J. C. T.; CARVALHO, N. P.; DHAMMIKA, N.; BASTOS, J. K. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol, 99, Issue 2, 3 June, Pages 215-220, 2005.

PUPO, S. C.; DAVISON, G. P.; MARTINEZ-SÁNCHEZ, G.; TAKEMURA, O. S.; SILVA, A. V.; GONÇALVES, G. F.; DELAPORTE, R. H. **Lat. Am. J. Pharm.**, 27 (3): 364-8, 2008.

RAMBO, B. S. J. **Anais Botânicos do Herbário**, 3: 107-84, 1953.

RAMOS, C. *Cordia verbenaceae*: planta contra a inflamação. **Phytomedica**, v.1, n.1, p.1, 2005.

RANG, H. P.; DALLE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Tradução de Amaury José da Cruz Júnior. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.904, 2003.

RECIO, M. C.; GINER, R. M.; MÁÑEZ, S.; RÍOS, J. L. Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural terpenoids. **Plant Med**, 61: 182-85, 1995.

RICARDO J. D.; QUAGLIO, A. E. V.; MACIEL, R. P.; LUIZ-FERREIRA, A.; ALMEIDA, A. C. A.; TAKAYAMA, C.; DE FARIA, F. M.; SOUZA-BRITO, A. R. M. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 20(3): 376-381, Jun/Jul. 2008.

RICE-EVANS, C. A.; PACKER, L. **Flavonoids in Health and Disease**. 2ª ed. London: Marcel Dekker, 467 p. 2003.

ROYER, L. A. J.; ZANETTI, G. D.; NECCHI, R. M. M.; MANFRON, M. P. Leaf Morphoanatomy of *Poiretia tetraphylla* (Poiret) Burkart (Leguminosae). **Lat. Am. J. Pharm.** 29 (5): 681-7, 2010.

ROOS, J. A.; KASUN, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, 22:19-34, 2002.

SANCHES, A. C. C.; LOPES, G. C.; TOLEDO, C. E. M.; SACRAMENTO, L. V. S.; SAKURAGUI, C. M.; MELLO, J. C. P. **Lat. Am. J. Pharm.**, 26: 362-8, 2007.

SANTOS, R. I. Metabolismo Básico e origem dos metabólitos secundários In: SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p.333-364, 1999.

SAJO, M. G.; RUDALL, P. J. Leaf and stem anatomy of Vochysiaceae in relation to subfamilial systematics. **Bot J Linn Soc**, 138: 339-364, 2002.

SAKATA, R. K.; ISSY, A. M. **Fármacos para o tratamento da dor**. Ed Manole. 1ª Ed. São Paulo, 2008.

SAKLANI, A.; KUTTY, S. K. Plant-derived compounds in clinical trials. **Drug Discovery Today**, 13: 161-171. 2008.

SAMUELSSON, B. Leukotrienes: mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. **Science**, 220: 568-575, 1983.

SCHENKEL, E. P.; ZANNIN, M.; MENTZ, L. A.; BORDIGNON, S. A. L.; IRGANG, B. Plantas tóxicas. In: Simões C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª. ed. Ed. Universidade, UFRGS, Ed. da UFSC. Porto Alegre/Florianópolis, Brasil. 25: 959-993, 2004.

SCHOLER, D. W.; KU, E. C.; BOETTCHER, I.; SCHWEIZER, A. Pharmacology of diclofenac sodium. **Am J Med**, 80(4B):34-8, 1986.

SERTIÉ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, 12: 338-344, 2005.

SHARON, A.; CENTER, D. M. V. Avaliação bioquímica da função hepática no cão e no gato. In: **Atualização terapêutica veterinária: pequenos animais**. p.1166-1183, 1995.

SILVA, B. P.; BERNARDO, R. R.; PARENTE, J. P. Flavonal glycoides from *Costus spicatus*. **Phytochemistry**, v. 53, p. 87-92, 2000.

SILVA, C. P. *Poiretia latifolia* e *Poiretia tetraphylla*: Estudo dos óleos voláteis e atividades biológicas preliminares. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Brasil. 2005.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. 4ª ed. Porto Alegre, Editora da Universidade/UFRGS, 176 p. 1995.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p, 2004.

SIPES, I. G.; DART, R. C. Toxicologia. In: Brody TM. et al. **Farmacologia humana - da molecular à clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.740-749, 1997.

SMITH, H. W. **The kidney: structure and function in health and disease**. New York: Oxford University Press; p. 63-6. 1951.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing: perspectives from the field. **J. Ethnopharmacol**, v.51, p. 1-15, 1996.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa, Instituto Plantarum, São Paulo. 2005.

SOUZA, M. M.; BELLA CRUZ, A.; SCHUMACHER, M. B.; KRUGER, M. R. O.; FREITAS, R. A.; BELLA CRUZ, R. C. Métodos de avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos. In: BRESOLIN, T. M. B.; CHECHINEL FILHO, V. **Ciências químico-farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**. Itajaí: UNIVALI, 2003.

SPECTOR, W. G. The granulomatous inflammation exudates. **Intern. R. Exp. Phatol**. 8:1-55, 1969.

SPENCER, K. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of creatinine. **Ann Clin Biochem**, v. 23, p.1-25, 1984.

STEVENS, P. F. Angiosperm phylogeny web site. www.mobot.org/MOBOT/research/. 2006.

SWINGLE, K. F.; SHIDEMAN, F. E. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 226-234, 1972.

TEIXEIRA, S. P.; GABRIELLI, A. C. **Rev. Bras. Bot.**, 23: 1-11, 2000.

TREASE, G. E.; EVANS, W. C. **Trease and Evans' Pharmacognosy**. 14^a ed. London: WB Saunders, p.293-294, 1996.

YESILADA, E. Past and future contributions to traditional medicine in the health care system of the Middle-East. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p. 135-7, 2005.

YUI, F.; LINARELLI, M. C. B.; ZELANTE, P. M. Atividade antiinflamatória da *Arnica montana*. **Rev Ciências Médicas**, v.7, n.1, p.21-6, 1998.

WALLACE, J. L.; MA, L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Exp Biol Med**, 226:1003-15, 2001.

WALKER, C. I. B.; ZANETTI, G. D.; CERON, C. S.; MANFRON, M. P. **Lat. Am. J. Pharm.**, 27: 203-10, 2008.

WALL, M. E.; WANI, M. C. Camptothecin and taxol: from Discovery to clinic. **J. Ethnopharmacol**, v.51, p. 239-254, 1996.

WANMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. **Farmacologia clínica para dentistas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

WINTER, C.; RISLEY, E.; NUSS, G. **Proc Soc Biol Chem**, Índia, 111:544, 1962.