

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

MARILENE PROVASI

ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO E DAS
FRAÇÕES OBTIDAS DO FRUTO DE *Cayaponia cabocla* (Vell.) Mart.
(Cucurbitaceae)

MARINGÁ
2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MARILENE PROVASI

ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO E DAS
FRAÇÕES OBTIDAS DO FRUTO DE *Cayaponia cabocla* (Vell.) Mart.
(Cucurbitaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Professor orientador: Prof. Dr. Diógenes Aparício Garcia Cortez.

MARINGÁ
2006

MARILENE PROVASI

ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO AQUOSO E DAS
FRAÇÕES OBTIDAS DO FRUTO DE *Cayaponia cabocla* (Vell.) Mart.
(Cucurbitaceae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data da aprovação:

BANCA EXAMINADORA

Prof: Dr. Diógenes Aparício Garcia Cortez
Orientador

Prof.: Ciomar Aparecida Bersani Prado
Membro

Prof.: Maria Lucilia Motinha Zamuner
Membro

Este trabalho é dedicado, com amor, a minha família e em especial ao meu esposo Edson pela paciência, companheirismo, carinho e estímulo constante.

AGRADECIMENTOS

Menção especial ao Prof. Dr. Diógenes Aparício Garcia Cortez pela valiosa orientação, amizade, incentivo e apoio que se fez presente em todas as fases de execução deste trabalho.

À Profª Drª Ciomar Aparecida Bersani Amado em especial pela dedicação e ensinamentos, além da grande contribuição na realização da parte experimental e redação dos estudos farmacológicos.

Aos Prof. Dr. Benedito Prado Dias Filho e Dr. Celso Vataru Nakamura pela colaboração no desenvolvimento dos ensaios, e correlações do trabalho.

Aos professores de Farmacognosia: Dr. Luís Carlos Marques, Dr. João Carlos Palazzo de Mello e Drª Mara Lane de Carvalho, pela colaboração no laboratório.

Aos professores de Química Farmacêutica: Dr. Arildo José Brás de Oliveira, Drª Izabel Cristina Piloto Ferreira e Drª Maria Lucília Motinha Zamuner, pela ajuda em todo tempo que se fez necessário.

Ao Prof. Dr. Roberto Barbosa Bazotte, pela ajuda e orientação durante todos os anos que fiquei nesta universidade.

Ao Sr. Sergio Kusawaka (*in memorian*), pelo fornecimento dos frutos coletados em seu sítio.

Às amigas e secretarias Sônia e Helena pela ajuda e companheirismo em todos esses anos de convivência.

Ao casal Carlos e Solidalva pela orientação técnica.

A Jailson e Célia técnicos do laboratório de Inflamação, pela ajuda na realização dos ensaios.

Às colegas do laboratório de inflamação, Tiele e Juliana pela realização dos ensaios.

À técnica Marinete do laboratório de Microbiologia Básica, pela atenção e ajuda.

Aos colegas do laboratório de Microbiologia Básica: Ivens, Raísa, Telma, Kelly, Andréia, Tatiana, pela atenção e apoio técnico.

Ao técnico do laboratório de Farmacognosia, Admir, pelo apoio técnico.

A Ivania pela ajuda na obtenção dos espectros de RMN.

Aos colegas do laboratório de Farmacognosia: Lucia, Vanessa, Syndi e Daniel pela amizade, e contribuição na realização prática deste trabalho.

A todos os colegas de turma do programa de Pós-Graduação, que dividiram seu tempo e compartilharam seus conhecimentos.

Á meus queridos pais, pela dedicada educação que me deram e a minha irmã Juliane que sempre torce por mim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas desta Universidade e ao corpo técnico/administrativo, pela oportunidade de realização deste trabalho, apoio e serviços prestados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada.

“Eu clamo ao Deus Altíssimo,
Do céu Ele me enviará a salvação,
Confundindo os que me atormentam!
Deus enviará Seu amor e Sua felicidade.”
(Salmo 57:3-4)

RESUMO

O presente trabalho teve como intuito o estudo da atividade biológica e investigação química do extrato bruto e frações do fruto de *Cayaponia cabocla* (Cc). Os estudos químicos foram feitos a partir da extração do fruto com água destilada em liquidificador, que depois de filtrado e liofilizado resultou no extrato bruto. Este extrato foi submetido a uma partição líquido-líquido dividindo-se em duas pré-frações, n-butanólica e Aquosa. A fração Aquosa foi fracionada em uma coluna de fase reversa C₁₈ utilizando como fase móvel Metanol/Água (1:1) e obtendo duas frações (a fração M e a fração FSP). As duas frações foram analisadas por ressonância magnética nuclear, qual detectado uma região com sinais/deslocamentos compatíveis com açúcares. Também, foram feitas reações de hidrólise e acetilação de açúcares para identificação dos mesmos. Os experimentos farmacológicos foram feitos em dois modelos experimentais de inflamação (edema de orelha e pleurisia). A pleurisia foi induzida pela carragenina e avaliada em ratos da linhagem Wistar (180-220g), os quais foram tratados com duas doses de extrato bruto de Cc (250 e 500 mg/kg de peso corporal). O edema de orelha induzido pelo óleo de cróton foi avaliado em camundongos da linhagem Swiss (25-35g). Neste experimento o extrato total de Cc (2,5;5,0 mg/orelha) e as pré-frações n-butanólica e Aquosa (5,0 mg/orelha), foram aplicadas topicamente, imediatamente após a aplicação do óleo. O extrato bruto de *Cayaponia cabocla* nas doses de 250mg e 500mg/kg reduziu significativamente o volume de exsudato inflamatório pleural quando comparados aos animais controles. Nas doses de 2,5 e 5,0 mg/orelha, o extrato bruto de Cc provocou inibição significativa do edema de orelha. As pré-frações do extrato bruto de Cc (n-butanólica e aquosa) provocaram a mesma inibição. No conjunto, os resultados demonstraram que o extrato bruto de *Cayaponia cabocla*, assim como suas frações quando aplicados em animais

por via tópica apresentam efeito antiinflamatório e que temos possíveis oligossacarídeos presentes sendo os responsáveis por esta ação.

Palavras Chave: *Cayaponia cabocla*, antiinflamatório, oligossacarídeos.

ABSTRACT

The aim of the present work was to study the biological activity and a chemical investigation of the crude extract and fractions of the fruit of *Cayaponia cabocla* (Cc). The chemical studies were carried out from the extraction of the fruit with distilled water in a blender, which after filtration and lyophilization resulted in the crude extract. This extract was divided into a liquid-liquid partition, and then separated into two pre-fractions, n-butanolic and aqueous. The aqueous portion was fractionated into a C 18 column of reverse phase using as movable phase Metanol/water (1:1), which resulted in two fractions (the M fraction and the FSP fraction). These two fractions were analyzed by nuclear magnetic resonance, which identified an area of sugars. Therefore, sugars hydrolysis and acetylation were carried out in order to identify them. The pharmacological experiments were performed in two experimental models of inflammation (ear edema and pleurisy). The pleurisy was induced by carragenine and assessed in Wistar rats (180-220g). The rats were treated with two doses of Cc crude extract (250 and 500 mg/kg of body weight). The ear edema, induced by the croton oil, was evaluated in Swiss mice (25-35g). The total extract of Cc (2.5; 5.0 mg/ear) and the n-butanolic and aqueous pre-fractions (5.0 mg/ear) were applied topically, immediately after applying the oil. The 250mg and 500mg/kg doses of the *Cayaponia cabocla* extract reduced significantly the volume of the pleural inflammatory exudate when compared to the controls. The 2.5 and 5.0 mg/ear doses of Cc caused a significant inhibition of the ear edema. The pre-fractions of Cc crude extract (n-butanolic and aqueous) showed the same results. The overall results showed that the *Cayaponia cabocla* extract, as well as its fractions, had an anti-inflammatory effect when administered topically to animals. The presence of oligosaccharides are likely to be responsible for this anti-inflammatory action.

Keywords: *Cayaponia cabocla*, anti-inflammatory, oligosaccharides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 Família cucurbitaceae	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1. Análise fitoquímica	28
3.2 Ensaio farmacológico	36
3.2.1 Preparo das soluções.....	36
3.2.2 Indução da Pleurisia.....	36
3.2.3 Indução do edema de orelha	37
3.2.4 Toxicidade aguda (DL ₅₀)	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Estudo Químico	39
4.2 Resultados espectroscópicos das frações acetiladas.....	43
4.3 Efeito do extrato total de <i>Cayponia cabocla</i> sobre a pleurisia induzida pela carragenina	44
4.4 Efeito do extrato bruto e das frações de <i>Cayponia cabocla</i> sobre o edema de orelha ..	46
5. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES.....	47
6. REFERÊNCIAS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aspecto das folhas e flores de <i>Cayaponia cabocla</i>	21
Figura 2: Aspecto do fruto no dia da coleta.	23
Figura 3: Aspecto da polpa de <i>Cayaponia cabocla</i>	23
Figura 5: Representação dos primeiros açúcares formados pela fotossíntese.....	26
Fluxograma 1: Procedimento para obtenção do extrato bruto e das frações n-butanolica e aquosa	31
Figura6: Sistema de fracionamento montado com a coluna LOBAR® e bomba peristáltica.	32
Figura7: Cromatografia em camada delgada, utilizando como fase móvel n-butanol: Ac. Acético.....	33
Fluxograma 2: Procedimentos para obter as frações M e as frações FSP a partir do fracionamento de fase	34
Figura 8: Espectro de RMN de ^1H da fração FSP em D_2O	39
Figura 9: Espectro de RMN de ^1H da fração M em D_2O	40
Figura 10: Espectro de RMN $_{13}\text{C}$ de FSP em D_2O	41
Figura 11: Espectro de RMN $_{13}\text{C}$ da fração M em D_2O	42
Figura 12: Espectro de RMN de ^1H da fração aquosa acetilada em CDCl_3	43
Figura 13: Volume do exsudato inflamatório coletado da pleura de animais, na 4 ^o hora após a injeção intrapleural de carragenina (200 μg). Cada valor representa a média \pm E.P.M de animais tratados com veiculo (solução de DMSO 16%), animais tratados com indometacina (5,0 mg/kg de peso corporal), e animais tratados com o extrato bruto de <i>Cayaponia cabocla</i> (250 e 500 mg/kg). Foram utilizados 7-10 animais por grupo. * $P < 0,001$ comparado ao grupo controle.	45
Figura 14: Aumento do peso da orelha (edema) de camundongos após aplicação de óleo de cróton (200 μg /orelha) em animais controle (acetona/água n=44) e tratados com extrato de <i>Cayaponia cabocla</i> – Cc (2,5 e 5 mg/orelha – n= 8) e frações (n-butanólica e aquosa 5mg/orelha n= 5). Indometacina (1mg/orelha) foi utilizada como droga de referencia.* $p < 0,001$.** $p < 0,05$ (ANOVA, teste de Tukey). Cc= <i>Cayaponia cabocla</i> , N-but= fração n-butanólica, Aq= fração Aquosa D_2O	46

1. INTRODUÇÃO

As plantas têm sido um importante recurso medicinal desde os primórdios da humanidade. No momento em que a espécie humana surgiu no planeta, as plantas já existiam há mais de 400 milhões de anos. Têm-se registros como desenhos em cavernas que revelam uma ligação muito íntima do homem com a natureza, principalmente com as plantas (CAMARGO, 1998).

Outros registros podem ser encontrados antes de 2500 a.C. como a medicina tradicional chinesa. Os egípcios, os gregos e muitas outras civilizações possuíam conhecimentos sobre o uso de vegetais, tais como azeite, figos, cebolas, alhos, etc. (ROBBERS, 1997).

Ao longo da história, vê-se que a arte de curar pelas plantas esteve por muito tempo associada a práticas mágicas, místicas e ritualísticas. Muitas vezes, uma planta era descoberta simplesmente por apresentar morfologia semelhante a alguma parte do corpo e, assim, ser associada a essa parte no processo de cura (FITOTERAPIA, 2000).

Durante as conquistas de novos continentes, houve uma difusão de espécies para áreas colonizadas como forma de promover a cura ou mesmo como simples continuação dos hábitos convencionais dos colonos. Esses colonos, juntamente com os povos indígenas e negros africanos, possuíam grande conhecimento sobre ervas medicinais, e ajudaram a influenciar a cultura dos países das Américas, África e Europa (CAMARGO, 1998).

Desse modo, as civilizações em todo mundo foram juntando suas experiências de forma única, deixando acumular até nossos dias um vasto conhecimento sobre as ervas.

No Brasil, têm-se relatos da utilização de plantas não somente como fonte de alimentos, mas também como fonte de medicamentos, desde que os primeiros habitantes chegaram aqui, há cerca de doze mil anos. No entanto, as primeiras informações sobre os

hábitos indígenas só começaram a ser propagadas com o início da colonização portuguesa. Tempos depois, o padre José de Anchieta descreveu várias plantas comestíveis e medicinais do Brasil, como o feijão, milho, a cevada, o grão-de-bico, o palmito e a mandioca. Essas espécies faziam parte dos principais alimentos indígenas. Das plantas medicinais, Anchieta relatou uma planta chamada de “erva-boa”, a pimenta, que era muito utilizada pelos índios contra indigestões, para aliviar nevralgias, reumatismos e doenças nervosas (SOARES, 2004).

Uma parte do conhecimento indígena, juntamente com o herdado dos negros e europeus, foi transmitida para a população. É difícil encontrar alguém que nunca curou a cólica infantil com camomila ou erva-doce ou o mal estar de uma ressaca com chás de folhas de boldo. Numa população como a brasileira, agregar garantias científicas a essa prática traz inúmeras vantagens.

Em 1978, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconheceu a importância das plantas medicinais e das preparações galênicas na cura de doenças, recomendando a difusão em nível mundial dos conhecimentos necessários para o uso das plantas medicinais (SOARES, 2004). Esse incentivo ajudou a formação de grupos que hoje estudam as plantas medicinais. Além disso, o Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada em cerca de 20% do número total de espécies do planeta. Essa grande biodiversidade chama a atenção de equipes multidisciplinares formadas por vários profissionais como botânicos, fitoquímicos, farmacólogos e biólogos.

De um modo geral, toda a história da medicina está intimamente ligada às plantas. Com o progresso das técnicas cromatográficas e de ressonância magnética nuclear, muitas espécies de diversas famílias de plantas foram e estão sendo estudadas. Contudo, existe uma gama muito grande de diversidade de estruturas e de propriedades físico-químicas e biológicas a serem pesquisadas dessas plantas. Apesar do aumento de estudos nesta área,

somente 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (CALIXTO, 2000).

A farmacologia avançou para a situação atual de elaboração de medicamentos sintéticos, que domina o mercado de fármacos há muitos anos. Apesar disso, hoje em dia, muitas plantas medicinais são amplamente comercializadas em países ricos e pobres na forma de medicamentos fitoterápicos. Nos últimos 20 anos, observou-se aumento significativo no mercado desses medicamentos na Alemanha e Estado Unidos. A indústria fitoterápica movimenta cerca de 5% do capital que circula no mercado global de medicamentos sintéticos. No Brasil, os medicamentos representam 4% do total comercializado (FITOTERAPIA, 2000)

De um modo geral, a população recorre aos conhecimentos populares na hora de utilizar plantas medicinais, por acreditar que, se bem não fizer, mal também não fará acreditar que as plantas medicinais são totalmente benéficas somente por serem plantas pode ser muito perigoso. Muitas plantas contêm constituintes tóxicos, e o uso indiscriminado de certas plantas pode resultar em intoxicações. A toxicidade pode resultar de altas concentrações ingeridas, do estado de conservação das plantas e também da forma de uso.

No Brasil temos alguns exemplos de plantas que foram utilizadas para tratamento de câncer, como o *Symphytum officinalis* (confrei), *Alloe spp.*(babosa) e *Euphorbia tirucalli* (aveloz). O extrato aquoso de confrei obtido por maceração foi proibido para uso interno devido à grande quantidade de alcalóides pirrolizidínicos, que são hepatotóxicos. No caso da babosa, não há relatos na literatura sobre a toxicidade de sua mucilagem, mas a presença de glicosídeos hidroxiantracênicos torna-a tóxica. Um de seus efeitos é a diarreia (RATES 2001).

Existem muitos medicamentos fitoterápicos que estão sendo usados profilaticamente para manter boa saúde ou prevenindo doenças. Contudo, com o uso prolongado nem sempre é possível prever a segurança e a eficácia, resultando algumas vezes em intoxicações crônicas.

Alguns fitoterápicos considerados seguros apresentam associados ao seu longo tempo de uso. Como exemplo, temos alguns laxativos, *Senna alexandrina* (*Cássia senna*), *Aloe vera*, *Rhamus frangula*, *Rhamus purshiana* (cáscara sagrada) que podem causar dores abdominais, diarreia, etc. As espécies *Valeriana officinalis*, *Passiflora incarnata* e *bupleurum floccatum*, conhecidas por seus efeitos sedativos, causam dores de cabeça, palpitações e insônia. O uso prolongado do guaraná pode causar agitação e insônia (ELVIN-LEWIS, 2001).

É claro que nessa situação o fato de tomar chá para curar algum mal repentino não constitui uma negação do conhecimento científico e da necessidade de orientação médica, mas representa uma busca àquele homem dos primórdios da humanidade, época que tudo era mais natural.

Desse modo, estudos são necessários a fim de garantir à população uma melhor qualidade de vida e evitar alguns problemas como a utilização errada de espécies vegetais pela população, dosagens incorretas, ausência de um controle de qualidade e boas práticas de cultivo.

A qualidade da matéria-prima vegetal usada como fitoterápico é de extrema importância, pois afeta diretamente a eficácia e a segurança desses medicamentos. Para melhorar a qualidade da matéria-prima, as indústrias estão investindo mais em cultivo em larga escala. Isto permite selecionar espécies com alto teor de princípios ativos, controlar pragas e contaminações por metais pesados, inseticidas, além de poder controlar o clima, nutrientes e luminosidade. Todos esses fatores contribuem para manter a qualidade, segurança e eficácia dos fitoterápicos (CALIXTO, 2000).

A necessidade de um controle de qualidade também é importante, embora a dificuldade em fazê-lo é um fator bastante crítico. De uma maneira geral, as plantas podem possuir centenas de constituintes, alguns deles presentes em concentrações mínimas. Os constituintes das plantas variam em função de fatores externos como temperatura, umidade,

luminosidade, método de coleta, secagem e transporte. Com os avanços tecnológicos ocorridos em técnicas analíticas (HPLC, RMN, etc.) é possível estabelecer critérios para padronizar e manter o controle de qualidade dos fitoterápicos (FARIAS, 1999).

É necessária a conjunção de profissionais, num trabalho multidisciplinar e interativo, na busca de substâncias farmacológicas ativas com potencial terapêutico. A identidade botânica, composição química e identificação dos constituintes químicos e análise das propriedades farmacológicas faz parte desses elementos envolvendo deste modo, diferentes profissionais especializados.

Um fator importante na procura de novas moléculas depende da interação entre a química e a farmacologia. Neste sentido, um diferencial a ser observado é que o estudo químico segue o caminho daqueles resultados farmacológicos que indicam uma atividade mais interessante, embora toda a composição química da planta deva ser explorada. Sendo assim, o químico deve isolar e identificar os compostos dos extratos que apresentam a atividade investigada.

Neste contexto, os programas de novas descobertas de drogas investem exageradamente na pesquisa de carboidratos com efeitos na fisiologia das células. Em particular os polissacarídeos são os mais estudados desta classe de metabólicos secundários. São compostos multifuncionais, com várias atividades farmacológicas. O foco maior destes produtos está voltado para a atividade imunológica, anti-mutagênica e antiinflamatória, com propriedades de proteção das membranas epiteliais. (DETERS M. A. et al 2005)

Na medicina moderna, as plantas ricas em polissacarídeos são usualmente utilizadas para o tratamento de doenças de pele, exemplos típicos destas espécies são *Abelmoschus esculents*, *Kaki fruits* e *Typha latifolia*. (DETERS M. A. et al 2005)

Muitas vezes a alta atividade biológica de um extrato não pode ser explicada somente por uma substância, nem pela soma dos efeitos das substâncias ativas, sugerindo a

ocorrência de efeitos sinérgicos ou a existência de outros componentes mais ativos, mas presentes em pequenas proporções. Por esse motivo, o estudo farmacológico de frações enriquecidas não deve ser deixado de lado. Paralelamente a isso, torna-se indispensável o estabelecimento de um perfil químico (cromatográfico/espectrométrico) dessa fração enriquecida (BARATA, 2003).

A ocorrência de efeitos sinérgicos em plantas é provada por meio de vários exemplos encontrados na literatura. Um exemplo é o trabalho realizado por japoneses, que comprovam esta hipótese no caso do fitoterápico denominado Sho-Saiko-To, que é uma mistura de sete ervas que atuam na prevenção de câncer de fígado (FILHO; YUNES, 2001).

Outra explicação ainda para o suposto “desaparecimento” da atividade biológica após o fracionamento seria a biodisponibilidade de alguma substância que quando pura, não seria absorvida da mesma forma que no extrato total ou bruto. Outro aspecto que deve ser levado em consideração é a instabilidade de substâncias ativas, que podem se degradar durante o processo de isolamento e se transformar em substâncias inativas (FILHO; YUNES, 2001).

Todas essas considerações mostram que o estudo de plantas medicinais é bastante complexo e que quanto maior for a interação entre químicos e farmacólogos, mais ampla será a possibilidade de sucesso no estudo de um extrato ativo.

Diversas espécies vegetais são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diferentes tipos de infecções e doenças inflamatórias. A indústria Farmacêutica e os Institutos de Pesquisa de todo mundo têm investido na busca de agentes antiinflamatórios com eficácia farmacológica, baixa toxicidade e com custos mais acessíveis para a população. Para isto, tornam-se indispensáveis estudos que comprovem a atividade biológica dos vegetais e que forneçam informações necessárias à sua utilização.

Este trabalho é uma tentativa de aprofundar esta interação interdisciplinar. Além disso, todo esse conjunto de fatos apresentados justifica a necessidade de estudar, investigar e comprovar todos os recursos naturais brasileiros, especialmente as plantas, levando para a população dados científicos que contribuirão na obtenção de melhores resultados para o tratamento de doenças com plantas medicinais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Família Cucurbitaceae

A ordem Violales (*sensu Cronquist*) contém 23 famílias de plantas, dentre elas a família Cucurbitaceae. No Brasil, a família possui cerca de trinta gêneros, com aproximadamente 800 espécies (BARROZO, 1978).

A família Cucurbitaceae engloba mais de 800 espécies de plantas, agrupadas em cerca de 80 gêneros, das quais muitas têm grande importância econômica na horticultura mundial. É uma das mais importantes famílias de plantas utilizadas para a produção de alimentos e fibras. Apesar da parte aérea das plantas desta família ser muito similar em seu desenvolvimento, grande variabilidade genética tem sido mantida para o formato e outras características de fruto, o que aumentou o seu potencial de uso.

As Cucurbitaceae são plantas herbáceas, trepadeiras ou rastejantes com caule com feixes bilaterais, com folhas geralmente grandes, inteiras ou profundamente lobadas, de disposição interna, sem estípulas.

A folha (Figura 1) é anfiestomática, com estômatos anomocíticos localizados no mesmo nível das células epidérmicas. Em vista frontal, a epiderme de ambas as faces é formada por células de tamanhos e formatos variados apresentando paredes periclinais retas. Em secção transversal, a epiderme é uniestratificada e revestida por cutícula delgada, com tricomas tectores simples pluricelulares unisseriados, com célula apical em forma de gancho; tricomas glandulares sésseis ou pedicelados com cabeça pluricelular; e formações apiculares mostrando a porção basal birrefringente em luz polarizada. O mesofilo é dorsiventral com parênquima paliçádico constituído por uma camada de células longas e nas regiões próximas às nervuras de maior calibre apresenta duas camadas de células mais curtas, e parênquima

lacunoso formado por várias camadas de células. A nervura central é constituída por um feixe maior do tipo biclateral envolvido por tecido esclerenquimático e um feixe menor, mais próximo da face adaxial, também envolto por esclerênquima. Colênquima angular ocorre em ambas às faces. Os feixes menores apresentam extensão de bainha esclerenquimática. O caule, em secção transversal, possui 5-6 sulcos ou alas, apresentando epiderme uniestratificada revestida por cutícula delgada. O sistema de sustentação está representado pelo colênquima angular, localizado especialmente nas costelas, e esclerênquima que ocorre de forma contínua externamente aos feixes vasculares. O sistema vascular é formado por feixes biclaterais dispostos em dois círculos. O parênquima medular apresenta pequenos espaços intercelulares sendo constituído por células de tamanhos variados com paredes delgadas. Possuem frutos e sementes numerosas (JOLY, 1998).



Figura 1: Aspecto das folhas e flores de *Cayaponia cabocla*

Várias espécies da família Cucurbitaceae são utilizadas para curar edema das pernas, cataplasma e outras doenças inflamatórias, entretanto se a dose for exagerada pode produzir hemorragia. Além do uso na medicina popular, o fruto de algumas plantas desta família, como *Lagenaria vulgares* e *Cayponia* também são utilizadas como caixa de ressonância musical e tem certo valor ornamental nas tribos indígenas (CORREIA, 1926).

A maioria das espécies da família Cucurbitaceae são de plantas comestíveis e de importante valor econômico. Dentre as mais comuns temos: abóbora, moranga, abobrinha, jerimum (*Cucúrbita*), melancia (*Citrullus*), bucha-de-metro, bucha, cabacinha, maxixão (*Luffa*), cabaça, cuia (*Lagenaria*), pepino, melão, maxixe (*Cucumis*). O popular chuchu (*Sechium*) é o fruto carnoso contendo uma única semente, também conhecido por maxuxo (DI STASI et al., 2002).

Dentre as plantas nativas, destaca-se o conhecido melão-de-são-caetano, melãozinho (*Momordica*), com seus característicos frutos carnosos deiscentes, de cor abóbora e sementes com testa carnosa vermelha tão comum nas cercas do litoral e interior do país (JOLY, 1998).

Dos Santos; et al (1996), demonstraram em estudos fitoquímicos, que *Cayponia tayuya* é a espécie oficial descrita na primeira Farmacopéia Brasileira e suprimida nas posteriores.

A *Cayponia cabocla*, assim como outras espécies da família Cucurbitaceae também são conhecidas popularmente como taiuiá. Como exemplos, pode-se apresentar, a taiuiá-de-felpas, a taiuiá-de-Goiás (ou abóbora do mato) (*Cayponia racemosa Cogn*), Taiuiá-do-Pará (*Cayponia glandulosa*), taiuiá grande (*Bryonia cordatifolia*) (CORREA, 1975).

Cayponia cabocla (Figura 2) popularmente chamada de cabacinha ou abóbora d' água, abóbora d' anta, é uma erva trepadeira, pubescente da família das Cucurbitaceae, que

foi disseminada nos países tropicais, mas é muito cultivada nos jardins da Europa e do extremo Oriente.



Figura 2: Aspecto do fruto no dia da coleta.

Esta espécie tem um uso bastante restrito como alimentar, sendo o fruto comestível apenas enquanto verde e pequeno, mesmo assim pouco apreciado. Depois de maduro fornece polpa muito amarga, purgativa, drástica e emoliente.

Acredita-se que as folhas, aquecidas e aplicadas topicamente, servem para apressar os partos e para curar as frieiras. (CORREIA, 1926).

A *Cayaponia cabocla* é uma planta pouco estudada na literatura. No entanto, a população vem utilizando o fruto desta cucurbitácea, assim como outras espécies da mesma família para minimizar os sintomas da sinusite e inflamações tópicas (VIPIN K.CARG at al 1986).

De forma caseira, é batido no liquidificador toda a parte interna do fruto, incluindo as sementes e em seguida pingado nas narinas, para diminuir a vaso constrição.



Figura 3: Aspecto da polpa de *Cayaponia cabocla*.

Segundo o botânico Monteiro da Silva (LESLIE TAYLOR, 2005), as espécies de *Cayaponia* são utilizadas hoje no Brasil como analgésico, antiinflamatório, tônico purificante e desintoxicante, também para o tratamento de retenção de líquidos, herpes severa, acnes, erisipelas e outros problemas cutâneos.

PETERS et al. (1999) demonstraram que os efeitos antiinflamatório e analgésico de algumas espécies da família curcubitaceae devem-se a presença de curcubitacina B e são decorrentes da redução dos níveis de prostaglandinas.

Cucurbitacinas são, por definição, triterpenos altamente oxigenados, com o esqueleto biogeneticamente incomum 19(10 β)-abeo-10 α -lanostano (cucurbitano) (Figura 4), que podem ser encontrados livres ou glicosilados. Elas são reconhecidas principalmente como os princípios tóxicos das plantas da família Cucurbitaceae, estando presentes em algumas espécies dessa família botânica usadas na medicina popular brasileira como a "buchinha" (*Luffa operculata*), "taiuiá" (*Wilbrandia ebracteata* e/ou *Cayaponia tayuya*) e "nhandiroba" (*Fevillea trilobata*).

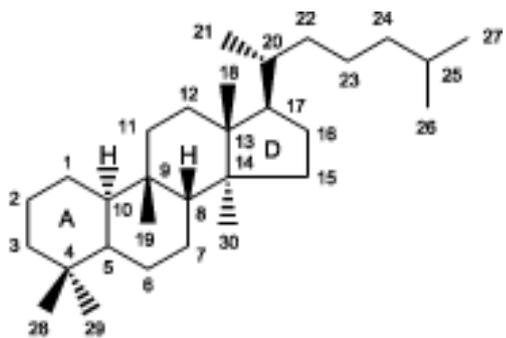
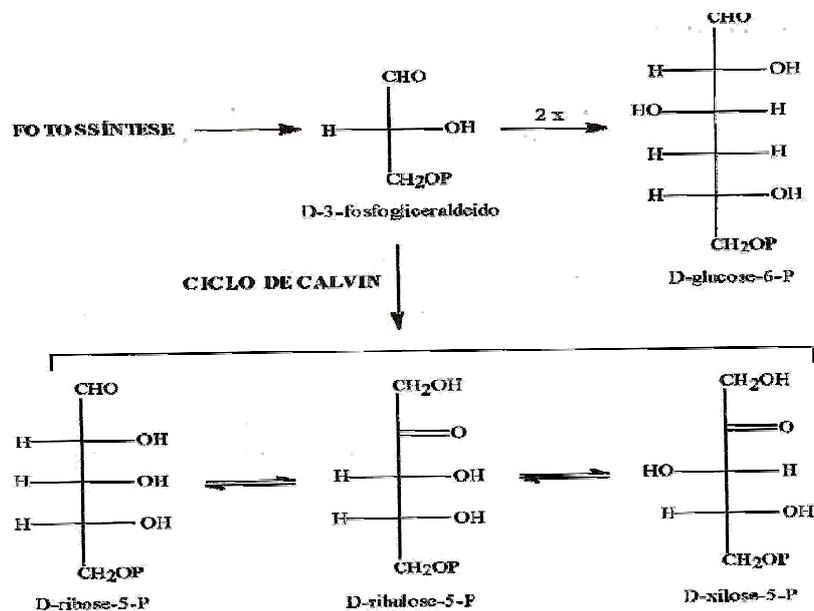


Figura 4: *EsqueletoCurcubitano*

Sendo assim, o presente projeto teve como objetivo investigar a atividade antiinflamatória e conhecer os princípios ativos responsáveis por tais atividades biológicas.

2.2 Carboidratos: definição e biossíntese

Dos constituintes químicos presentes em plantas, animais e microorganismos, os carboidratos são os que representam o maior número. São sintetizados pelo metabolismo primário, essencial a todos os organismos e, quando polymerizados, funcionam como componentes de reserva e estruturas da parede celular dos organismos. Do ponto de vista químico, monossacarídeos são polihidrocíalceídios (aldoses) ou polihidroxicetonas (cetoses).



São os primeiros produtos formados pela fotossíntese (Figura 2).

Figura 5: Representação dos primeiros açúcares formados pela fotossíntese.

São constituídos de três a sete átomos de carbonos com cadeias lineares alifáticas, porém, há relatos de monossacarídeos com oito, nove e até dez átomos de carbono. Entretanto, na natureza, são os monossacarídeos com cinco (pentoses) e seis (hexoses) átomos de carbono os mais freqüentes em polissacarídeos vegetais.

Quimicamente, pentoses e hexoses possuem estruturas cíclicas (furanosídicas e peranosídicas) resultantes de reações intermoleculares do grupo carbonílico em C-1 ou C-2

com grupos hidroxílicos em C-4 ou C-5 de suas próprias cadeias alifáticas, correspondendo em um hemiacetal cíclico (DEWICK, 1997).

Houve época em que se pensava que os carboidratos eram compostos poucos interessantes, cuja utilidade biológica era servir como suporte estrutural e fonte de energia. Sabe-se hoje que os carboidratos, além desse papel, desempenham muitas outras funções bioquímicas importantes. Um exemplo é o caso dos antígenos dos grupos sanguíneos humanos A, B e O, onde pequenas cadeias polissacarídicas unidas glicosidicamente a grupos hidroxilas de proteínas (glicoproteínas) atuam como marcadores bioquímicos na superfície das células, processo pelo qual um tipo de célula reconhece a outra.

Muitos metabólitos secundários quimicamente ativos derivam do metabolismo dos carboidratos, sendo clara a relação do metabolismo primário das plantas em geral com as vias do acetato, chiquimato e mevalonato. Um exemplo dessa relação é a digoxina, substância extraída da *Digitalis purpúrea* usada no tratamento de doenças cardíacas, é um glicosídeo de um álcool esteróide complexo e um trissacarídeo composto por estruturas de D-digitoxose ligadas por ligações glicosídicas.(MCMURY, 1997).

De forma semelhante, os flavonóides, em elevadas proporções também podem apresentar unidades monossacarídicas em suas estruturas. A rutina, por exemplo, um flavonol com pronunciada atividade antioxidante, em testes *in vitro*, presente em diversas espécies de leguminosas, apresenta unidades de glucose e ramnose unidas por ligações glicosídicas ligadas à posição 3 do esqueleto flavônico.

Estes são exemplos de monossacarídeos responsáveis por atividades biológicas já estudadas, o que nos mostra a importância dessas substâncias como agentes estruturais na medicina atual.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Análise fitoquímica

3.1.1 Coleta e obtenção dos extratos brutos

O fruto de *Cayaponia cabocla* (Vell.) Mart. (*Cucurbitaceae*) é comercializado na feira do produtor que acontece todas as quartas-feiras e sábados em Maringá, na barraca 69 sob a responsabilidade do Sr. Sergio Kusawaka. Desta barraca foi feito os primeiros relatos de uso da cabacinha por pessoas residentes nas proximidades.

Para a obtenção do extrato bruto, foram coletados 15 frutos de *Cayaponia cabocla* no dia 29 de janeiro de 2004, no sítio Kusawaka a 20 quilômetros de Maringá. Uma amostra foi depositada no herbário da Universidade Estadual de Maringá – Pr (HUM 11-747).

Para a preparação do extrato bruto foram retiradas as polpas e as sementes de 12 frutos que foram triturados com água destilada a frio em um liquidificador por 10 minutos, obtendo-se, inicialmente, uma suspensão que foi imediatamente filtrada em funil com papel de filtro e concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida. O resíduo remanescente foi novamente colocado no liquidificador e batido até esgotamento total do fruto.

Após concentrado, o extrato teve a água eliminada por liofilizador resultando em 58,79 gr de extrato bruto que foi armazenado em freezer.

3.1.2 Técnicas cromatográficas

3.1.2.1 Partição líquido- líquido

Para o fracionamento do extrato bruto da *Cayaponia cabocla* utilizou-se uma técnica de partição líquido-líquido em funil de separação com capacidade de um litro. Os solventes utilizados foram n-butanol e água destilada.

3.1.2.2 Cromatografia de fase reversa LOBAR

O fracionamento do extrato aquoso foi realizado em uma coluna de fase reversa C18 LOBAR, LiChroprep RP-18 (40-63 um) tamanho (240-10), Art.10624 MERCK. A coluna foi conectada a uma bomba peristáltica da marca Pharmacia Biotech e as frações eram coletadas em tubos de ensaio de tamanhos iguais com fluxo de 25 gts/min., em velocidade 3,5 1x.

3.1.2.3 Cromatografia em camada delgada

Para realização da CCD, foram utilizados placas de vidro de 5,0 x 10,0 cm preparadas com 0,25 mm de sílica gel GF254 (MERCK®), ativadas à 105-110 °C por 30 min. de acordo com Collins et al. (1997), ou cromatoplasas pré-fabricadas de alumínio Kieslgel 60 F254 (MERCK®), 20,0 x 20,0 cm com 0,2 mm de espessura. Como fase móvel foram utilizados solventes puros e em misturas binárias ou terciárias de polaridades diferentes.

A visualização das substâncias nas placas de CCD foi realizada por radiação UV em 254 e 366 nm. Foi feita revelação com ninidrina dissolvida em água com 1% de acetona e aquecida em estufa em temperatura de 70°C. Os eluentes utilizados para cromatografia em camada delgada foram de grau p.a. (Synth e Nuclear).

3.1.2.4 Análise de Ressonância Magnética Nuclear

As análises por RMN unidimensionais de ^1H , ^{13}C , DEPT e bidimensionais de COSY, HETCOR, HETLR foram realizadas em espectrômetro VARIAN, modelo GEMINI 2000 BB, 300 MHz para ^1H e 75,45 MHz para ^{13}C . Para as análises por RMN unidimensional de gNOE e bidimensionais de HMBC e novamente o COSY, foram realizadas em espectrômetro BRUCKER, modelo DRX-400, 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C . Foi utilizado o solvente deuterado D_2O (Aldrich®), e como referência interna o TMS ($\delta=0,0$ ppm).

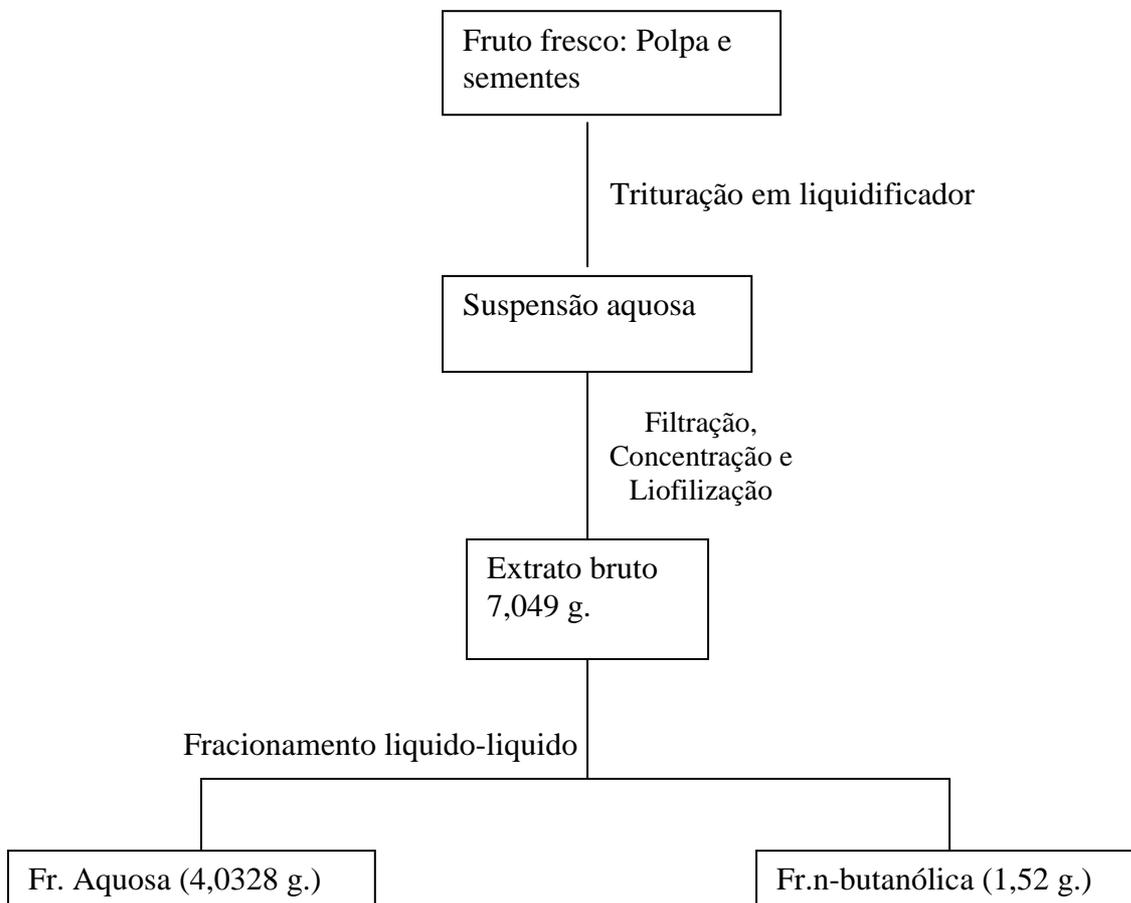
3.1.2 Fracionamento do extrato bruto

O fracionamento iniciou-se com uma partição líquido-líquido conforme descrito em CORTEZ, *et al* (1998), adicionando-se aproximadamente 7 gramas de extrato bruto em um funil de separação, 100 ml. de água destilada e 100 ml. de n-butanol. Após agitação foram separadas duas frações: aquosa (670 ml.) e n-butanólica (618 ml.). O procedimento foi repetido (em torno de 12 vezes) até esgotamento total do extrato, utilizando cerca de 700ml. de cada solvente.

As frações n-butanólica e aquosa foram concentradas em evaporador rotativo até a retirada de todo o solvente e depois foram liofilizadas obtendo um rendimento de 1,52 gramas e 4,0328 gramas, respectivamente.

As duas frações foram armazenadas em freezer sob temperatura de 18°C , sendo vedadas de umidade. (fluxograma 1)

O fluxograma 1 mostra o procedimento de obtenção do extrato bruto e das frações.



Fluxograma 1: Procedimento para obtenção do extrato bruto e das frações n-butanólica e aquosa do fruto de *Cayaponia cabocla*.

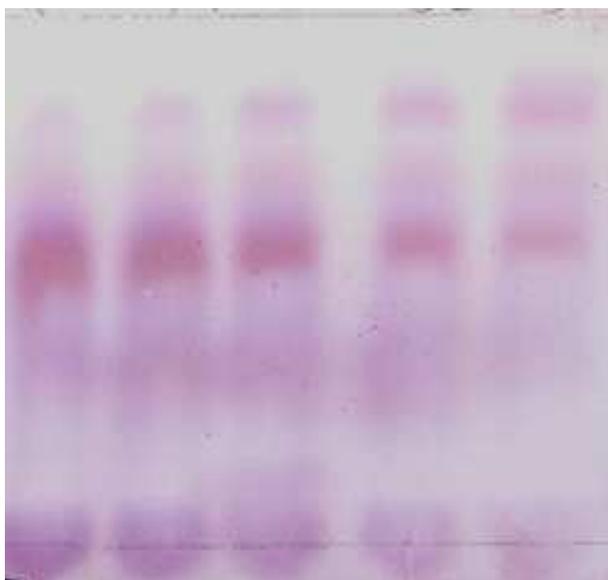
3.1.3 Fracionamento em fase reversa

Sendo a fração aquosa a mais rentável, decidiu-se por passar 100 mg. desta fração em uma coluna LOBAR[®] de fase reversa C₁₈(Figura 5), utilizando uma bomba peristáltica. O eluente utilizado foi metanol: água (1:1).



Figura 6: Sistema de fracionamento montado com a coluna LOBAR[®] e bomba peristáltica.

Deste fracionamento obteve-se 36 frações que foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (figura 6), e depois reunidas em duas grandes frações, a fração B (7,6 mg) e a fração FSP (0,4mg). O eluente para a corrida das placas cromatográficas foi n-butanol:ac. acético e água e o revelador foi uma solução ninidrina 1%.



A



B

Figura 7: Cromatografia em camada delgada, utilizando como fase móvel n-butanol: ac. acético: água (5:2:3). Revelador solução de ninidrina a 1% em acetona.

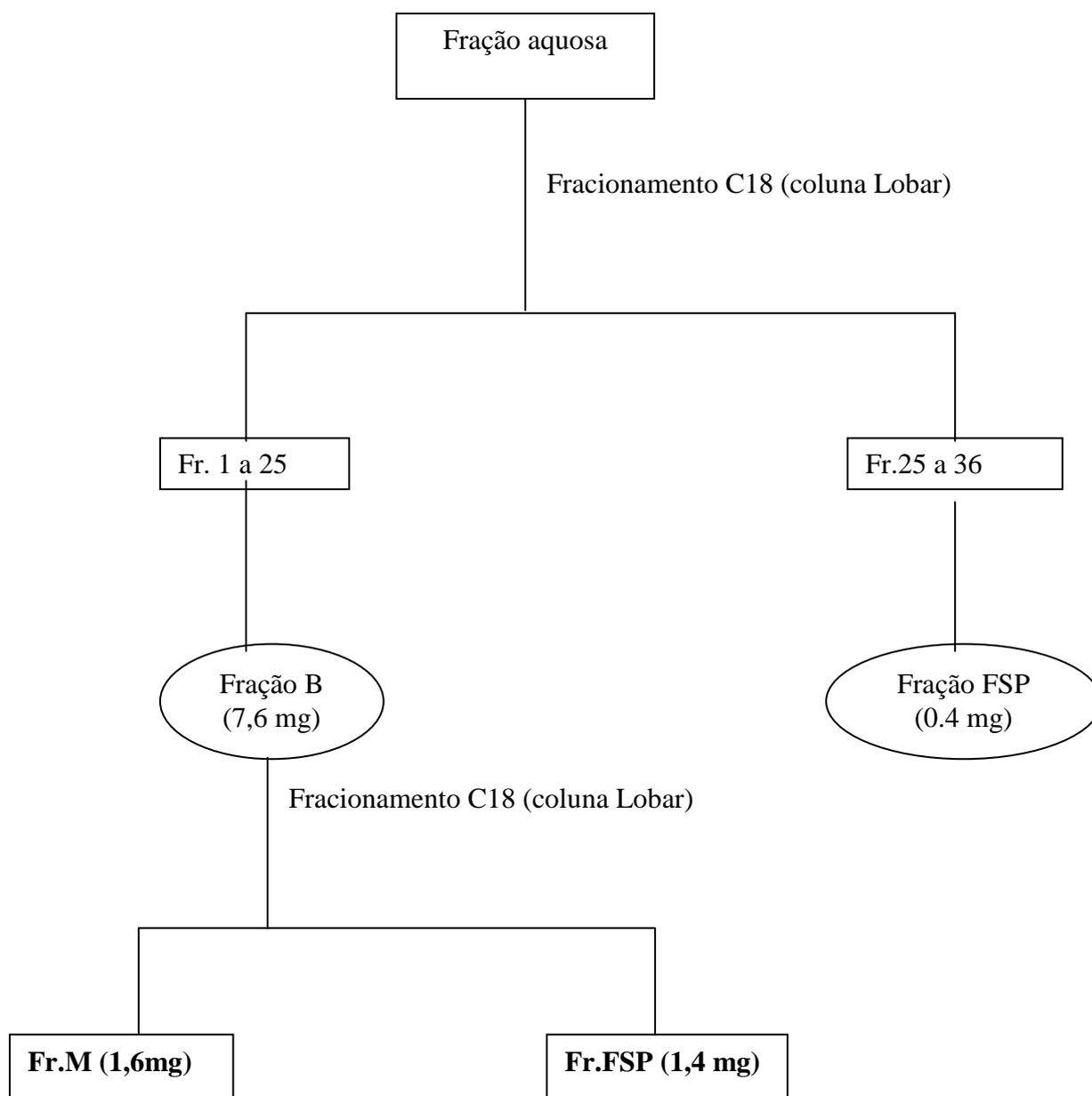
A: Frações B (7,6 mg).

B: Frações FSP (0,4 mg)

A fração B foi recromatografada em coluna, sob os mesmos procedimentos, para obter a fração M (1,6 mg) e quantidades maiores da fração FSP (1,4 mg).

O fracionamento foi repetido 23 vezes nas mesmas condições tendo como quantidade final de 36,8 mg da fração M e 32,2 mg da fração FSP.

O fluxograma 2 mostra os procedimentos utilizados para o fracionamento.



Fluxograma 2: Procedimentos para obter as frações M e as frações FSP a partir do fracionamento de fase reversa na coluna C18 (coluna Lobar), utilizando metanol/água (1:1) como eluente.

As frações B e FSP foram analisadas por ressonância magnética nuclear. Os espectros das duas frações exibiram sinais nas regiões de açúcares (3,5 a 5 ppm).

Sendo assim, resolveu-se fazer identificação destes açúcares através de hidrólise e acetilações.

3.1.4 Hidrólise e redução dos Polissacarídeos.

Os monossacarídeos presentes nos polissacarídeos da fração aquosa de *Cayaponia cabolca*, foram determinados através de seus alditol-acetatos, segundo SAWRDEKER *et al* (1965) e ALBERSHEIM (1967). Um volume de 200 μ l de solução de polissacarídeos a 2 mg/ml foi hidrolisado com 125 μ l de ácido trifluoracético (TFA) 6N, por 3 horas a 100°C. A hidrólise foi feita em uma ampola de 10 ml lacrada. Após a evaporação até secura, foi feita a redução do hidrolisado com boridreto de sódio em hidróxido de amônia 0,5N (2,5mg/ml), por 60 minutos. Posteriormente, foi adicionado ácido acético a 20% para destruir o excesso de borhidreto, e o borato formado foi removido por sucessivas lavagens com metanol.

A redução com borohidreto de sódio é muito seletiva, o reagente age reduzindo aldeídos, cetonas e cloreto de ácido na presença de outro grupo funcional redutível. Ele dissolve-se melhor em solventes aquosos e alcoólicos.

Reage com água para formar o intermediário alcoiboridreto, sendo este na função de agente redutor suave.

O mecanismo no qual o hidreto efetua a redução envolve uma transferência nucleofílica do hidreto para o grupo carbonila. Atuação do grupo carbonila através de coordenação com cátion metal é provavelmente a condição na maioria das vezes.

3.1.5 Acetilações.

À fração aquosa foram adicionadas partes iguais de anidrido acético e piridina (0,5 ml), e as soluções foram deixadas em repouso à temperatura ambiente por 24 horas. Após a reação ter sido concluída, a mistura reagente foi transferida para um funil de separação ao qual foi adicionado água destilada gelada, e diclorometano. O excesso de piridina presente na

fase orgânica é extraído em ácido clorídrico 10%, e os sais formados eliminados com extrações com água destas fases.

As fases orgânicas foram secas com bicarbonato de sódio, e os solventes evaporados.

As amostras foram levadas para análises de ressonância magnética nuclear.

3.2 Ensaio farmacológico

3.2.1 Preparo das soluções

Para os ensaios de pleurisia, o extrato total de *Cayaponia cabocla* foi diluído em solução de dimetilsulfóxido (DMSO/água, 1:6), imediatamente antes do uso. A solução foi administrada nos animais sob jejum por via intragástrica, em doses de 250 e 500 mg, 30 minutos antes da indução da pleurisia.

Para os ensaios de edema de orelha o extrato total de *Cayaponia cabocla* e as frações n-butanólica e Aquosa foram diluídos em solução acetona/água (1:1). Estas preparações foram aplicadas nas orelhas imediatamente após a aplicação do agente irritativo (óleo de cróton).

3.2.2 Indução da Pleurisia

Os animais foram anestesiados com éter etílico e depilados. Em seguida receberam injeção de 0,25 mL de solução de carragenina (200 µg/animal) na cavidade intrapleural, na região do mediastino direito, entre a 3^o e a 4^o costelas, de acordo com a técnica descrita por Vinegar *et al* (1973). A carragenina foi diluída em salina tamponada com

fosfato (PBS). Na 4^o hora após a injeção de carragenina, os animais foram anestesiados e sacrificados, para a coleta do exsudato inflamatório intrapleurar.

O material foi colocado em tubos de centrifuga de polietileno graduados e o seu volume determinado. Em seguida foi realizado à lavagem da cavidade pleural com 2 mL de tampão PBS heparinizado (25 UI/mL). O material coletado foi colocado no tubo contendo o exsudato, sendo o volume final completado para 5 mL com o tampão PBS. Este material foi utilizado para a contagem do número de leucócitos totais no exsudato.

3.2.3 Indução do edema de orelha

O edema foi induzido através da aplicação de uma substância irritante (20 µl de óleo de *Cróton* na concentração de 200 µg/orelha, diluído em uma solução de acetona/água 7:3) em ambas as faces internas das orelhas do camundongo (VAN ARMAN, 1974). A seguir, foi administrado 20 µl da solução do extrato bruto nas doses de 2,5 e 5,0 mg/orelha e 5 mg/orelha das frações n-butanólica e aquosa na superfície interna da orelha esquerda (tratada). A orelha direita recebeu apenas o solvente do extrato (20µl). Após 6 horas, os animais foram sacrificados e as orelhas foram seccionadas com um vazador de metal, em discos circulares de 6 mm de diâmetro. Estas secções foram pesadas em uma balança analítica e o edema foi avaliado como a diferença de peso em (mg) entre as orelhas direita e esquerda.

3.2.4 Toxicidade aguda (DL₅₀)

Os camundongos sob jejum de 18 horas, receberam o extrato bruto por via intragástrica (via i.g.) ou por via intraperitoneal em doses crescentes. Os animais foram observados por 7 dias e durante este período, receberam água e ração livremente. O número

de mortes foi determinado e a DL_{50} calculada através da Análise de Probitos (MILLER & TAINTER, 1944).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo Químico

As frações FSP e M foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear. A interpretação dos dados espectrais comparados com a literatura, demonstraram que tanto a fração FSP quanto a fração M, correspondem a uma mistura de açúcares e que possivelmente sua estrutura majoritária seja um oligossacarídeo.

O espectro de RMN de prótons de hidrogênio da fração FSP em D₂O (figura 8 e 9), mostra dubletos de hidrogênio anoméricos em uma região com sinais de deslocamento químico típico de açúcares (3 a 5,5 ppm). No espectro de carbono-13, na região de 60 a 110 ppm podem-se observar sinais de carbonos carbinólicos característicos de uma mistura de açúcares (Figura 10 e 11).

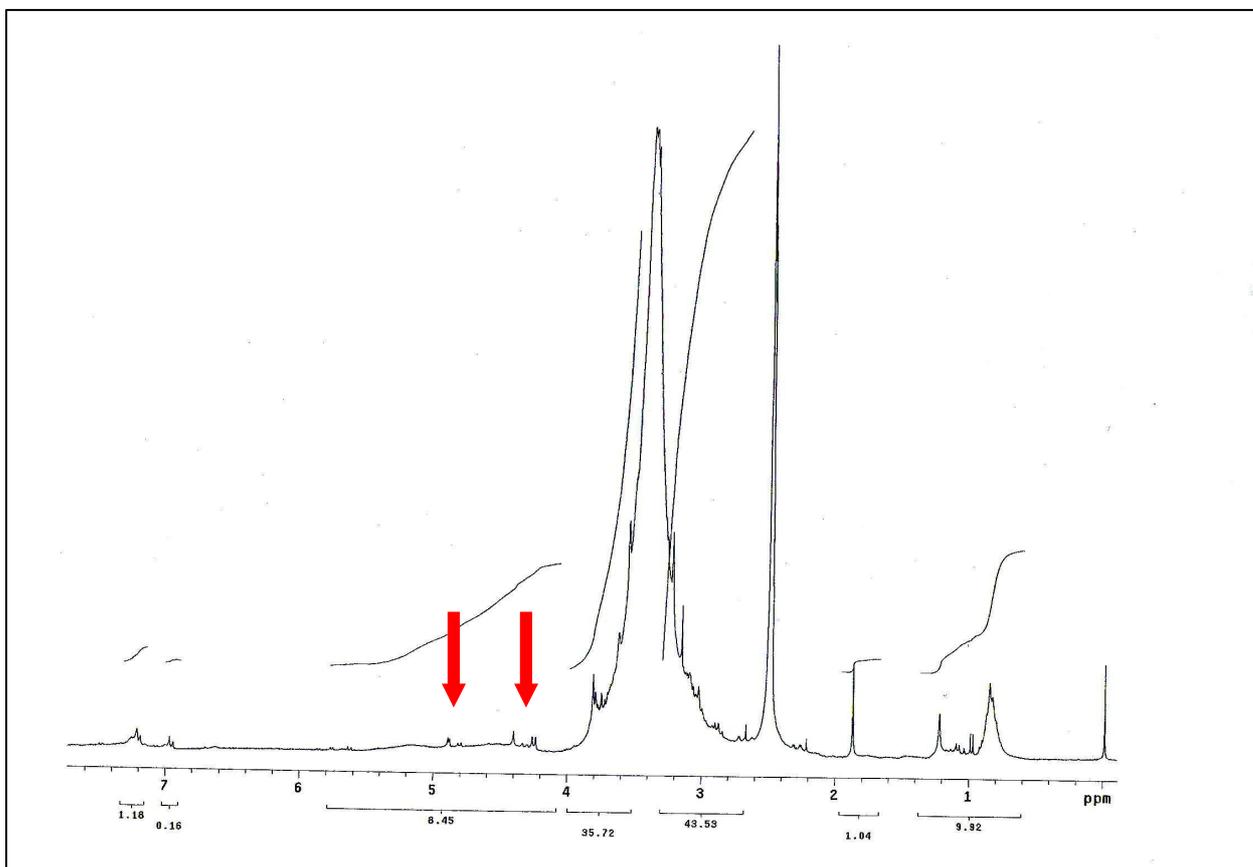


Figura 8: Espectro de RMN de ¹H da fração FSP em D₂O.

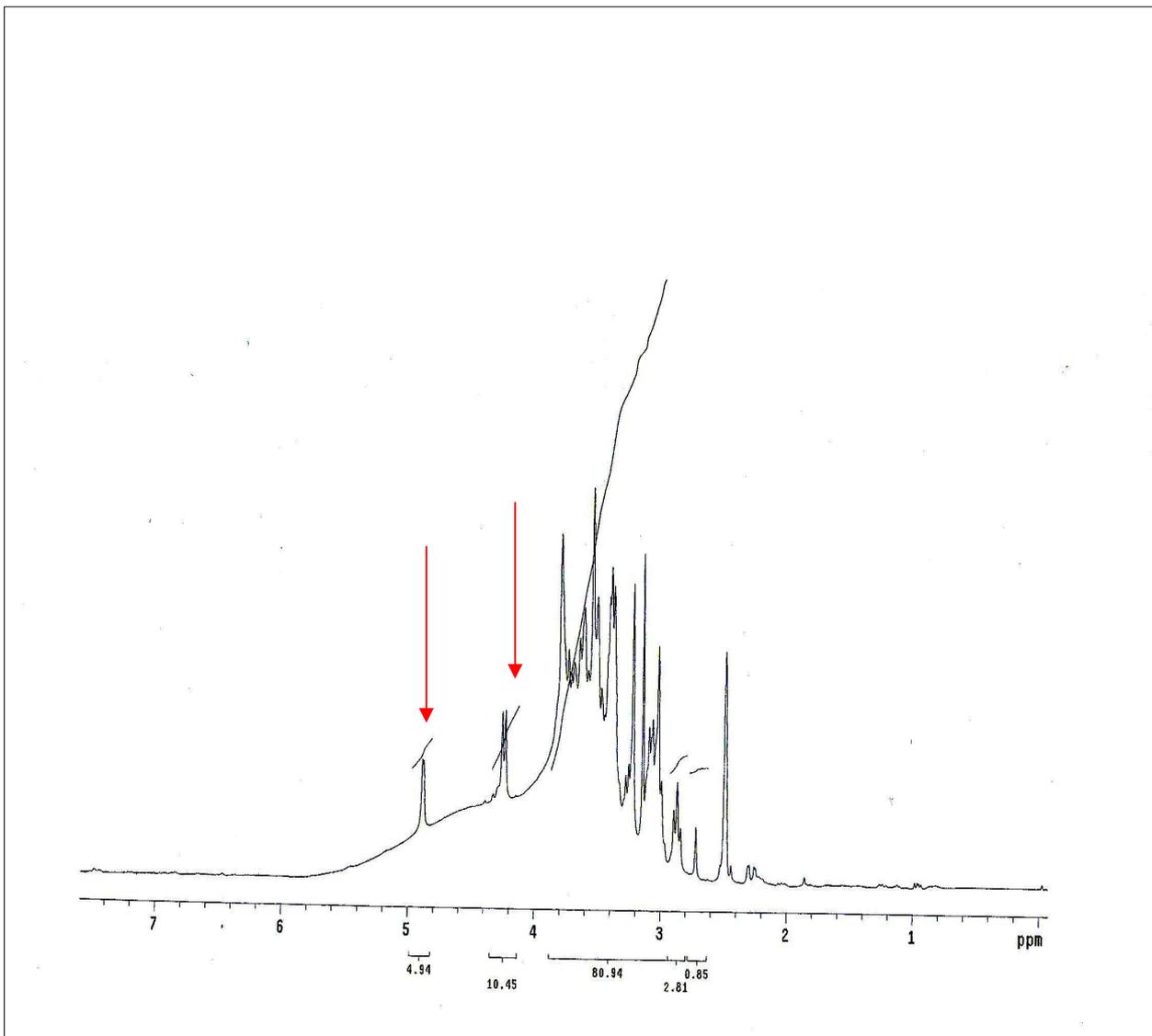


Figura 9: Espectro de RMN de ¹H da fração M em D₂O

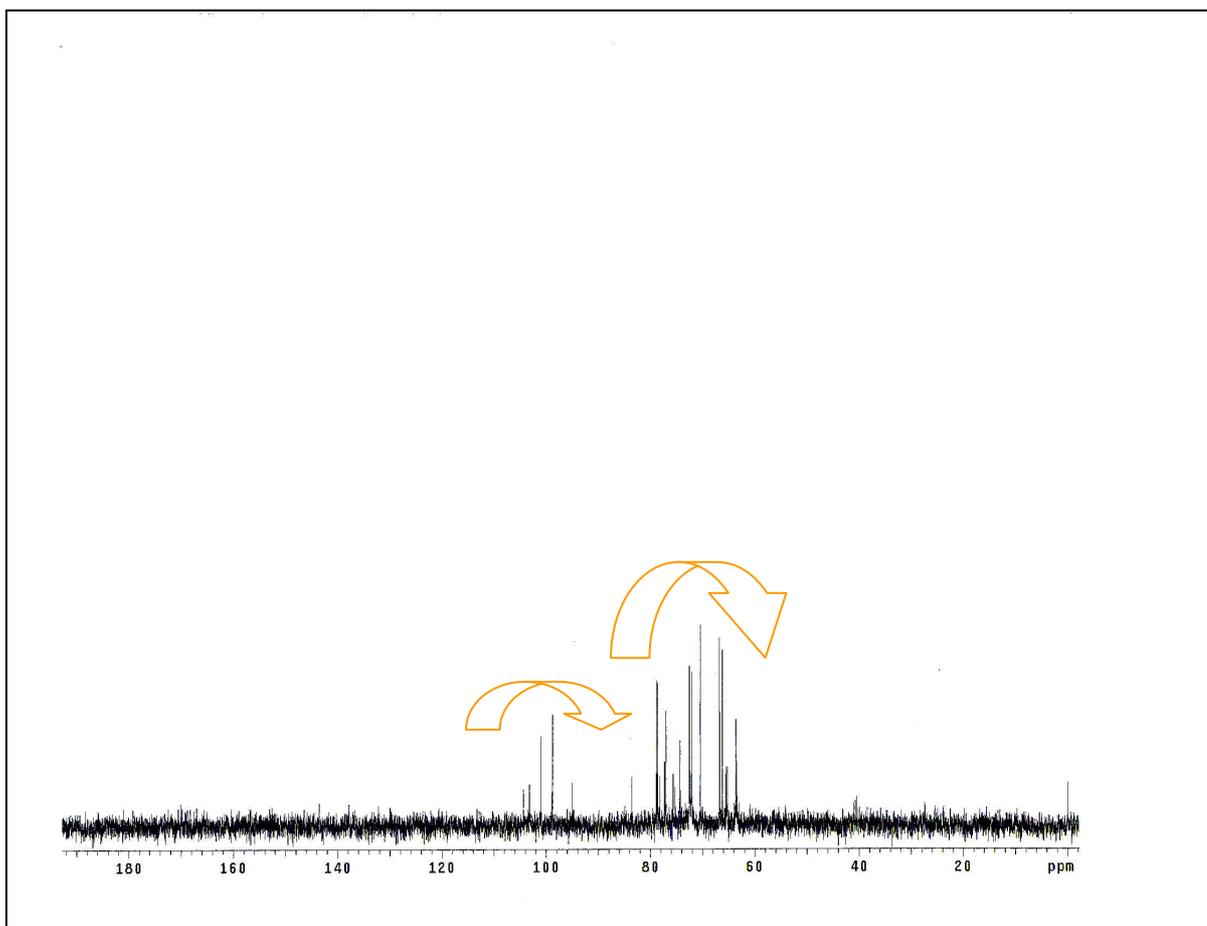


Figura 10: Espectro de RMN^{13}C de FSP em D_2O

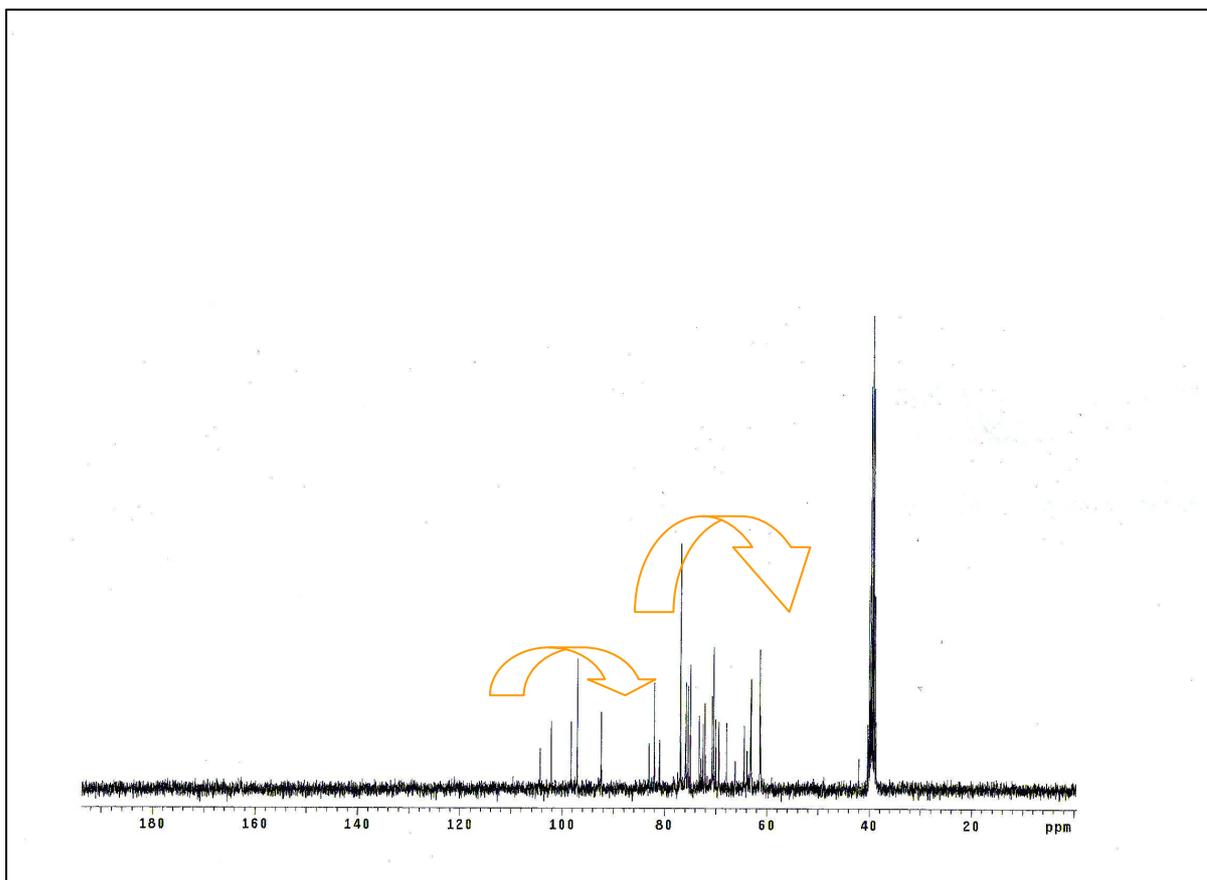


Figura 11: Espectro de RMN¹³C da fração M em D₂O

4.2 Resultados espectroscópicos das frações acetiladas.

Uma amostra da fração aquosa hidrolisada de *Cayaponia cabocla* após ter sofrido acetilação por anidrido acético e piridina foram levadas para análise de RMN, onde se comprovou a presença de uma mistura de monossacarídeos através do sinais de deslocamentos químicos de metilas de acetatos.

O hidrogênio da metila do grupo acetato apresentam um deslocamento químico em torno de 2,0 ppm. Aparecem como singlete no espectro de RMN H.

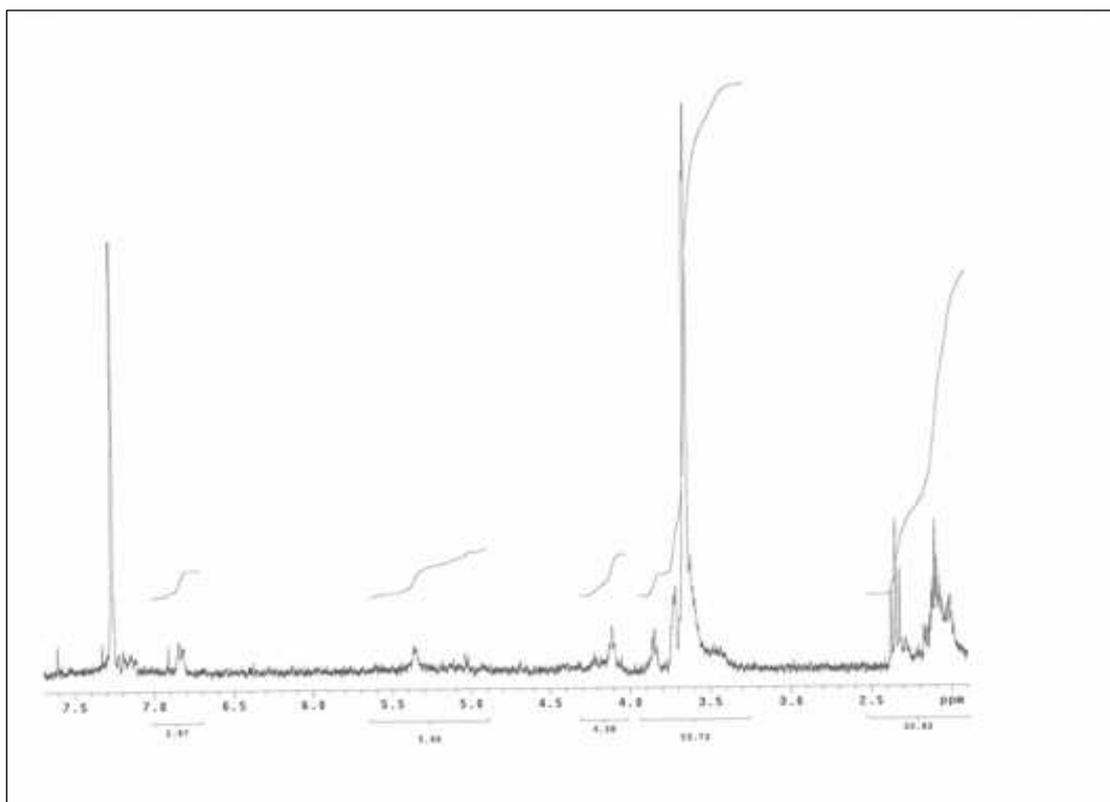


Figura 12: Espectro de RMN de ^1H da fração aquosa acetilada em CDCl_3

4.3 Efeito do extrato bruto de *Cayponia cabocla* sobre a pleurisia induzida pela carragenina

A injeção intrapleural de carragenina induz uma resposta inflamatória aguda, caracterizada por um aumento no volume do exsudato pleural e no número de leucócitos migrados. O tratamento dos animais com o extrato bruto de Cc, reduziu o volume do exsudato inflamatório pleural sem, no entanto, alterar o número de células migradas (Tabela 1). Como observado na Figura 12, as doses de 250 e 500 mg/kg de peso corporal provocaram redução similar na intensidade da resposta.

Tabela 1. Contagem global de leucócitos no exsudato inflamatório pleural de ratos, na 4^a h após injeção de carragenina (200µg).

GRUPOS DE ANIMAIS	LEUCÓCITOS TOTAIS (células/mm ³)
Basal	6700 ± 450
Controle (Cg)	56750 ± 6565*
Cg+Indo	63 170 ± 4206
Cg+Cc ₂₅₀	47820 ± 2442 [#]
Cg+Cc ₅₀₀	41500 ± 1880 [#]

Cg = carragenina (200µg), Cc *Cayponia cabocla* * p<0,001, comparado ao grupo basal (ANOVA, Teste de Tukey).

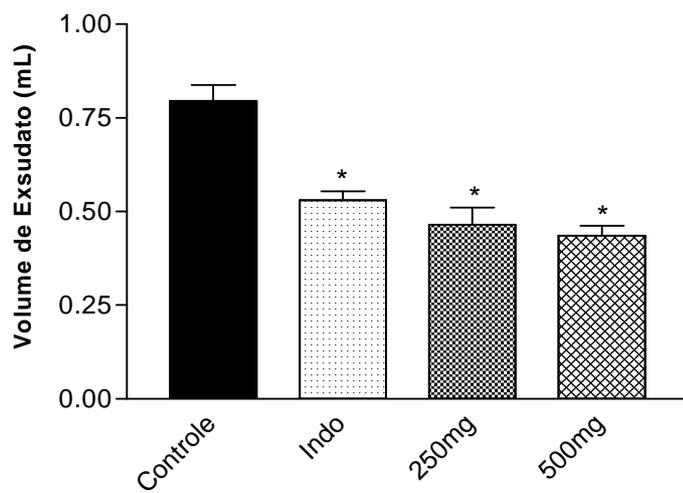


Figura 13: Volume do exsudato inflamatório coletado da pleura de animais, na 4^o hora após a injeção intrapleural de carragenina (200 µg). Cada valor representa a média ± E.P.M de animais tratados com veiculo (solução de DMSO 16%), animais tratados com indometacina (5,0 mg/kg de peso corporal), e animais tratados com o extrato bruto de *Cayaponia cabocla* (250 e 500 mg/kg). Foram utilizados 7-10 animais por grupo. * P<0,001 comparado ao grupo controle.

4.4 Efeito do extrato bruto e das frações de *Cayponia cabocla* sobre o edema de orelha

A aplicação do óleo de cróton causou um aumento de aproximadamente 2 vezes no peso da orelha dos camundongos controles. O extrato bruto de *Cayponia cabocla* nas doses de 2,5 e 5,0 mg/orelha, assim como as frações n-butanólica e Aquosa na dose de 5 mg/orelha, reduziram significativamente a formação do edema (Figura 13).

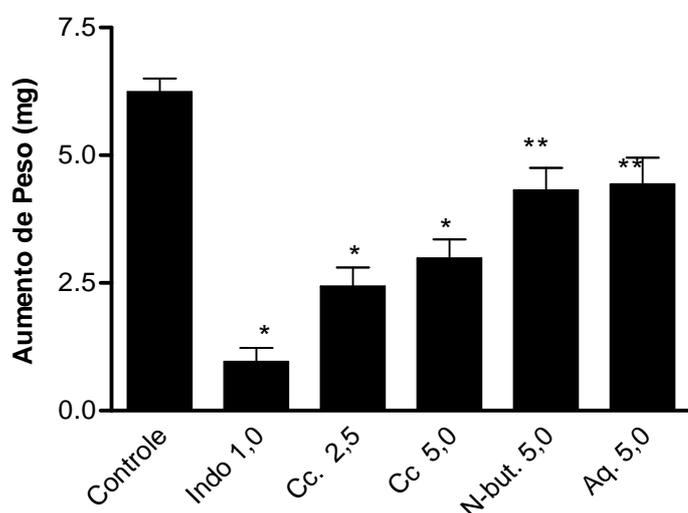


Figura 14: Aumento do peso da orelha (edema) de camundongos após aplicação de óleo de cróton (200µg/orelha) em animais controle (acetona/água n=44) e tratados com extrato de *Cayponia cabocla* – Cc (2,5 e 5 mg/orelha – n= 8) e frações (n-butanólica e aquosa 5 mg/orelha n=5). Indometacina (1 mg/orelha) foi utilizada como droga de referencia.*p<0,001.** p<0,05 (ANOVA, teste de Tukey). Cc= *Cayponia cabocla* , N-but= fração n-butanólica, Aq= fração Aquosa D₂O

5. COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES.

Este trabalho teve como objetivo o fracionamento e a investigação dos constituintes químicos com atividade antiinflamatória do fruto de *Cayaponia cabocla*

Levando em consideração que a população de Maringá usava o extrato aquoso nas narinas para aliviar a sinusite, o extrato bruto de *Cayaponia cabocla* foi preparado com o mesmo solvente.

O extrato bruto do fruto foi testado no modelo experimental de indução de pleurisia. Nas dosagens de 250 e 500mg de extrato bruto, obteve-se um resultado significativo na redução do volume do exsudato.

Neste trabalho, foi realizado um fracionamento líquido-líquido do extrato bruto de *Cayponia cabocla*, que resultou nas frações aquosas e n-butanólica. As duas frações e o extrato bruto foram testadas no modelo de edema de orelha.

O extrato bruto, as frações aquosa e n-butanólica, reduziram significativamente o edema de orelha. Não existiram diferenças significativas entre as frações e o extrato bruto.

Do fracionamento em fase reversa da fração aquosa, foram obtidas duas frações a fração M e a fração FSP, que foram analisadas por RMN de ^1H e ^{13}C e seus espectros foram compatíveis com uma mistura de açúcares.

Houve a hidrólise e acetilação dos polissacarídeos da fração aquosa, para comprovar que o constituinte principal do fruto de *Cayaponia cabocla* com atividade antiinflamatória era um oligossacarídeo.

No levantamento bibliográfico foram identificadas várias espécies de plantas ricas em oligossacarídeos com efeitos antiinflamatórios e que são utilizadas em doenças de pele. Além disso, os dados bibliográficos mostram que os polissacarídeos deixaram de ser apenas um metabólico primário e estão sendo responsáveis por atividades biológicas comprovadas.

Todos os resultados foram de grande importância, uma vez que demonstraram através dos modelos experimentais utilizados e das análises de RMN, que o extrato do fruto de *Cayaponia cabocla* apresentou atividade antiinflamatória de uso tópico, e não demonstrou nenhuma toxicidade quando testada.

Concluimos que diante da vasta variedade de plantas que encontramos na flora brasileira, temos uma espécie ativa de fácil cultivo e que pode ter grande valor para a medicina brasileira.

6 REFERÊNCIAS

AGRAWAL, P. K. (ed.). **Carbon 13 NMR of flavonoids**. Amsterdam: Elsevier, 1989.

AHMAD, V. U.; ALI, M. S.; USMANGHANI, K. Bondenolide, a new diterpenoid from the seeds of *Caesalpinia bonducella*. **Zeitschrift fur Naturforschung B**, v. 52, n 3, p. 410-412, 1997.

ALMEIDA, F. D. P. **Estudo químico de plantas que apresentam atividade biológica**. 1996. 62p. Monografia (Bacharelado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 1996.

AQUINO, R.; DE TOMMASI, N.; DE SIMONE, F., PIZZA, C. Further triterpenes and quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 5, p. 1035-1040, 1997.

AWASTHI, K. K.; MISRA, K. Chemical constituents of *Caesalpinia pulcherrima* stem bark and flowers. **Journal Indian Chemical Society**, v. 54, n. 6, p. 646-647, 1997.

BABICH, B.; BORENFREUND, E. Neutral Red assay for toxicology *in vitro*. In: WATSON, R. R. (Ed.). *In vitro methods of toxicology*. Boca Raton: 1992. p. 237-251.

BACCHI, E. M.; SERTIE, J. A. A.; VILLA, N.; KATZ, H. Antiulcer action and toxicity of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferea*. **Planta Medica**, v. 61, n. 3, p. 204-207, 1995.

BALICK, M. J.; ELISABTSKY, E.; LAIRD, S. A. **Medicinal resources of the tropical forest: biodiversity and its importance to human health**. New York: Columbia University Press, 1996.

BARATA, G. Medicina popular obtém reconhecimento científico. **Revista Ciência e Cultura**, nº 3, p. 12, 2003.

BARILE, F. **Introduction to *in vitro* cytotoxicology: mechanisms and methods**. Boca Raton: CRC press, 1994. p. 222.

BARRON, D.; IBRAHIM, R. K. Isoprenylated flavonoids-a survey. **Phytochemistry**, v. 43, n. 5, p. 921-982. 1996.

BARROZO, G. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. São Paulo: Edusp, 1978. v. 3.

BASILE, A; GIORDANO, S.; LÓPEZ-SÁES, J. A.; COBIANCHI, C. Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. **Phytochemistry**, v. 52, p. 1479-1482, 1999.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

BOREL, C.; HOSTETTMANN, K. Molluscicidal saponins from *Swartzia madagascariensis*. **Desvaux. Helvetica Chimica Acta**, v. 70, p. 570-576, 1987.

C. LA CASA, I.; VILLEGAS, C.; ALARCÓN DE LA LASTRA., V.; MOTILVA, M. J.; CALERO, M. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **Journal of Ethnopharmacology**,. v. 71, p. 45-53, 2000.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicine (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**,. v. 33, p. 179-189, 2000.

CAMARGO, M. T. L. A. **Plantas medicinais e de rituais afro-brasileiros II: estudo etnofarmacobotânico**. São Paulo: Ícone, 1998.

CARVALHO, J. C. T.; TEIXEIRA, J. R. M.; SOUZA, P. J. C.; BASTOS, J. K.; FILHO, D. S.; SARTI, S. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **Journal of ethnopharmacology**, v. 53, n. 3, p. 175-178, 1996.

CHE, C. T.; MACPHERSON, D. D.; CORDELL.; G. A.; FONG, H. H. S. Pulcherralpin, a new díterpene ester from *Caesalpinia pulcherrima*. **Journal Natural Products**, v. 49, n. 4, p. 561-569, 1986.

CHING, T.; JONG, J.; BAST, A. A method for screening hypochlorous acid scavengers by inhibition of the oxidation of 5-tio-2-nitrobenzoic acid: application to anti-asthmatic drugs. **Analytical Bíochemistry**, v. 218, p. 377-381, 1994.

CHOI, S. Y.; YANG, K. M.; JEON, S. D. Brazilin modulates immune function mainly by augmenting T cell actívity in halothane administered mice. **Planta Medica**, v. 63, n. 5, p. 405-408, 1997.

COOK, N. C; SAMMAN, S. Flavonoids-Chemistry, metabolism, cardioprotective effects. and dietary sources. **Nutritional biochemistry**, v. 7, p. 66-76, 1996.

CORREA, M. P. Dicionário das plantas útil do Brasil e das exóticas cultivadas, v. 3, **Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**, Rio de Janeiro.1984.

CORREA, J. B. C., **Métodos químicos para determinação de estrutura de polissacarídeos.**

CORTEZ, D.A.G.; MARSTON, A., HOSTETTMANN, K. Separation of Xanthones and a Biphenyl from *Kielmeyera coriacea* by Centrifugal Partion Chromatography. **Chromatographia**, 50 (1/2): 7-10, 1999.

CORTEZ, D.A.G.; YOUNG, M.C.M.; MARSTON, A. WOLFENDER, J. L.; HOSTETTMANN, K. Xanthones, triterpenes and biphenyl from *Kielmeyera coriacea*. **Phytochemistry**, 47 (7): 1367-1373, 1998.

CRONQUIST, A. **The evolution and classitication of flowering plants**. New York: NY Botanical Garden, 1988.

DEVIENNE K. F. **Avaliação da atividade biológica *in vitro* de isocumarina naturais e semi-sintéticas obtidas de *Paepalanthus bormelioides***. 2000. 127 p. Dissertação (Mestrado

em Biotecnologia) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araraquara, 2000.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products**. Chichester: John Wiley & Sons, 1998.

DI CARLO. G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A; CAPASSO, F. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, p. 337-353. 1999.

DI STASI, L. C.; GUIMARÃES, E. M.; SANTOS, C. M.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA BRITO, A. R. M. Fabales medicinais. In: DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Fundação Editora Unesp, São Paulo, 2002a, cap. 18, p. 276-320.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; GONZALEZ, F. G.; PORTILHO, W. G. Violaes medicinais. In: DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo: Fundação Editora Unesp, São Paulo, 2002b., cap.18, p. 177-199.

DI STASI, L. C.; OLIVEIRA, G. P.; CARVALHAES, M. A; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIEN, O. S.; KAKINAMI, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, p. 69-91, 2002c.

DOS SANTOS, R I.; DOS SANTOS, M. A.; SCHENKEL, E. P. Analysis of the plant *drug Wilbrandia ebracteata* (Cogn) Cogn. **International Journal of Pharmacognisys**, v. 34. p. 300-302, 1996.

DEWICK, P., **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. John Wiley & Sons: West Sussex, England, 1997.

ELVIN-LEWIS. L. Should we be concerned about herbal remedies. **Journal Ethnopharmacology**, v. 75, p. 141-164, 2001.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. IN: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL., E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, JI. C. P.; MENTZ, L. A; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina: Editora da UFSC, 1999. p.197-220.

FERRARI, F.; BOTTA, B. ALVES DE LIMA, R. Flavonoids and isoflavonoids from *Zollernia paraensis*. **Phytochemistry**, v. 22, p. 1663-1664, 1983.

FERRARI, F.; BOTTA, B.; ALVES DE LIMA, R.; BETOLLO, G. B. M. 7,2',4'- Trihydroxy -3'-metoxyisoflavone from *Zollernia paraensis*. **Phytochemistry**, v. 23, p. 708-700, 1984.

FERRARI, F.; ALVES DE LIMA, R.; BETOLLO, G. B. M. 2,4,2' -trihydroxy -4' -metoxybenzil from *Zollernia paraensis*. **Phytochemistry**, v. 23, p. 2691-2692, 1984.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A Estudo químico de plantas medicinais orientado para a análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. In: YUNES, R. A; FILHO, V. C. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Santa Catarina: Argos - Editora Universitária, 2001. p. 47-75.

FILHO, R. B.; DEMORAES, M. P. L.; GOTTLIEB, O. R. The chemistry of Brazilian leguminosae. Pterocarpanes from *Swartzia laevicarpa*. **Phytochemistry**, v. 19, p. 2003-2006, 1980.

FILHO, D. W.; SILVA, E. L.; BOVERIS. Flavonóides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: YUNES, R. A; FILHO, V. C. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Santa Catarina: Argos - Editora Universitária, 2001., p. 47-75.

FITOTERAPIA: Sua história e importância. **Fitoterapia & Saúde**, n. 1, p. 8-12, 2000.

FRESHNEY, R. I. **Culture of animal cells-a manual of basic technique**. 3rd ed. New York: Wiley-Less, 1994. 486 p.

GARAI, S.; MAHATO, S. B. Isolation and structure elucidation of three triterpenoid saponins from *Acacia auriculiformis*. **Phytochemistry**, v. 44, n. 1, p. 137-140, 1997.

GEETHA, T.; VARALAKSHMI, P.; LATHA M. R. Anti-inflammatory activity of lupeol and lupel linoleate in rats. **Journal Ethnopharmacology**, v. 76, p. 77-80, 2001.

GILANI, A. H.; AZIZ, N.; KHAN, M. A.; SHAHEEN, F.; JABEEN, Q.; SIDDIQUI, B. S.; HERZIG, J. W. Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsivant, sedative and antipasmotic activities of *Lavallidula stoechas* L. **Journal Ethnopharmacology**, v. 71, p. 161-167, 2000.

GOLDBERG, A M.; STARK, D. M. **Pharmacopeial Forum**, p. 3235-3236, Nov.-Dec. 1987.

GONZALEZ, F. G.; **Folhas de *Wilbrandia ebracteata*: eficácia, inocuidade e controle de qualidade**. 2001. 86 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) -Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2001.

GONZALEZ, F. G.; PORTELLA, T. Y.; STIPP, E. J.; DI STASL L C. Antiulcerogenic and analgesic effects of three, *Maytenus ilicifolia* ("espinheira-santa") adulterants: *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zollernia ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 41-47, 2001.

GUARDIA, T; ROTELLI, E. A; JUAREZ, O. A.; PELZER, E. L. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rats. **Il Farmaco**, v.56, p. 683-687, 2001.

GUO, S., KENNE, L. Structural studies triterpenoid saponins with new acyl components from *Quillaja saponaria* Molina. **Phytochemistry**, v. 55, p. 419-428, 2000.

HARBORNE, J. B. **The flavonoids: advances in research since 1986**. London: Chapman and Hall, 1996.

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

IKAN, R. **Naturally occurring glycosides**. New York: John Wiley & Sons Ltd, 1999.

ITO, H; MIYASAKI, T; ONO, M; SAKURAI, H. Allergic activities of radosiin and its related compounds: chemical and biochemical evaluations. **Bioorganic & Medicinal**

Chemistry, v. 6, p.1051-1056, 1998.

IZZO, A.A.; DICARLO, G.; MASCOLO, N.; CAPASSO, F.; AUTORE, G. Antiulcer effect of flavonoids-Role of endogenous PAF. **Phytotherapy Research**, v. 3, p. 179-181, 1994.

JOLY, A. B. **Botânica introdução à taxnomia vegetal**. Rio de Janeiro: Companhia Editora Nacional, 1998.

JOL Y, C. A.; SPEGLICH, E. Programa Biota/FAPESP: um novo paradigma no estudo da conservação e do uso sustentável da biodiversidade. **Revista Ciência e Cultura**, n. 3, p. 12-16, 2003.

KARAKAYA, S.; EL NEHIR, S. Quercetin, luteolin, apigenin and kaempferol contents af same foods. **Food Chemistry**, v. 66, p. 289-292, 1999.

KRAUZE-BARANOWSKA, M.; CISOWSKI, W. Flavonoids from some species of the genus *Cucicumis*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 321-324, 2001.

LAVAUD, C.; BEAUVIÉRE, S.; MASSIOT, G.; MEN-OLIVIER, L.; BOURDY, G. Saponins from *Pisonia umbellifera*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 1, p. 189-194, 1996.

LEWIS, D. A.; HANSON, D. Anti-ulcer drugs of plant origin. **Progress in Medicinal Chemitry**, v. 28, p. 201-231, 1991.

LESLIE TAYLOR, ND. **The Healing Power of Rainforest Herbs**. New York: Square One, 2005. 318p.

LOPES, J.F. Cucurbitáceas. **Horticultura Brasileira**, v.9, p. 98-99, 1991.

LORENZL H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Editora do Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. 246 p.

MAHATO, S. B.; KUNDU, A. P. ¹² C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids - A

compilation and some salient features. **Phytochemistry**. v. 37, n. 6, p. 1517-1575, 1994.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições EUFC, 1997.

MATSUDA, H.; LI, Y.; MURAKAMI, T.; YAMAHARA, J.; YOSHIKAWA, M. Protective effects of oleanolic acid oligoglycosides on ethanol- or indomethacin-induced gastric mucosal lesions in rats. **Pharmacology Letters**. f. 63. p. 245-254. 1998.

MCMURY, J., **Química Orgânica**. Rio de Janeiro, Brasil: LTC, 1997; Vol.2.

MORRISON, R.; BOYD, R. **Química orgânica**. 11.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 1994.

NAHRSTEDT, A., ROCKENBACH, J. Occurrence of the cyanogenic glucoside prunasin and its corresponding mandelic acid amide glucoside in *olinia* species (Oliniaceae). **Phytochemistry**. v. 34. p. 433-436, 1993.

PAVAN-FRUEHAUF, S. **Plantas Mediciniais da Mata Atlântica: manejo sustentado e amostragem**. São Paulo: Annablume: Fapesp, 2000. 216p.

PEREIRA A. M. C. B.; FARIAS, M. R; VARGAS, V. M. F. Study of the mutagenic activity of extracts of the plant *Wilbrandia ebracteata*. **Phytotherapy Research**, v. 10, p. 512-516., 1996.

PETERS, R. R.; SALEH T. H.; LORA, M; PATRY, C.; DE BRUM-FERNANDES. A. J.; FARIAS, M. R.; RIBEIRO-DO-VALLE. R M. Anti-inflammatory effects of the products from *Wilbrandia ebracteata* on carrageenan-induced Pleurisy in mice. **Life Sciences**, v. 64, p. 2429-2437, 1999.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

REICHARDT, H. **As florestas da América do Sul**. Rio de Janeiro: Editora Polígono, 1972.

REYES. M.; MARTIN, C.; delaLASTRA, C. A.; TRUJILLO, J.; TORO, M. V.; AYUSO, M. J. Antiulcerogenic of the flavonoid fraction from *Erica andevalensis* Cabezudo-Rivera. **Zeitschrift fur Naturforschung C**, v. 51, p. 563-569, 1996.

RICCI, C. V., PATRÍCIO. M. C. B.; SALATINO, M. L. F.; SALATINO, A; GIULIETTI, A M. Flavonoids of *Syngonanthus* Ruhl. (Eriocaulaceae): taxonomic implications. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 24. p. 577-583, 1996.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER. N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 20, n.7. p. 933-956, 1996.

ROBBERS, J. E.; SPEEDL M. K.; TYLER. V. E. **Farmacognocia e farmacobiocologia**. São Paulo: Editorial Premier. 1997.

ROCKENBACH, J.; NAHRSTEDT. A.; WRAY, V. Cyanogenic glycosides from *Psydrax* and *Oxyanthus* species. **Phytochemistry**, v. 31, n. 2, p. 567-570, 1992.

RYU, S. H. The citotoxic principle of *Scutellariae radix* against L 1210 cells. **Planta Médica**. v. 51, p. 355, 1985.

SANGUINETTI, E. E. **Plantas que curam**. Porto Alegre: Rígel, 1989. 208 p.

SANNOMIYA, M.; VILEGAS, W.; RASTRELLI, L.; PIZZA, C. A flavonoid glycoside from *Maytenus aquifolium*. **Phytochemistry**, v.49. p. 237-239, 1998.

SAWARDEKER, J.S., SLONEKER, J.H. & JEANES, A. **Quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas-liquid chromatography**. Anal. chem., 37:1602-1604. 1965.

SEIGLER D. S. Isolation and characterization of naturally occurring cyanogenic compounds. **Phytochemistry**, v. 14, p. 9-29, 1975.

SERTIÉ, J. A. A.; BASILE, A .C. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* III: oral and topical anti-inflammatory activity and gastrotoxicidade of a crude leaf extract. **J. Ethnopharmacol**, V. 31, p. 239-47, 1991.

SIL VERTEIN, R. M.; BASSLER. G. C. MORRILL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds**. New York: John Wiley & Sons Ltd. 1991.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina: Editora da UFSC, 1999.

SLISH, D. F., UEDA, H., ARVIGO, R., BALICK, M.J. Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 159-165, 1999.

SOARES, A. C. **Se bem não faz, mal também não fará**. Disponível em: <http://www.cdcc.sc.usp.br>. Acesso em: 15 abr. 2004.

SROKA, Z.; CISOWSKJ, W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, v. 41, p. 753-758, 2003.

TAPIERO, H.; TEW, K. D.; NGUYEN, B. A; MA TIJÉ, G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 56, p. 200-207, 2002.

VAN ARMAN, G. C. Clinical Pharmacology and Therapeutics. **Anti-inflammatory drugs**. V. 16, p. 900-904, 1974

VETIER., J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon**, v. 38, p. 11-36, 2001.

VILEGAS, W.; NEHME, C. J.; OOKKEDAL, A L., PIACENFE, S.; RASTRELLI L.; PIIZA, C. Quercetin 7-methyl ether glycosides from *Paepalanthus veitchii* and *Paepalanthus jaipês*. **Phytochemistry**, V. 51, p. 403-409, 1999.

VINEGAR R, TRUAX, J.F, SELPH, J.L. Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-induced pleurisy in the rat (37397). **Proc. Soc. Exp. Biol.**, v. 143, p 711-714. 1973.

YUNES, R. A.; CHECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R.A.; CALISTO, J. B. (Org.) Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal. Chapecó: Argos, 2001.p. 14-44.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)