

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr: **DA TEORIA
MEDICINAL À INVESTIGAÇÃO TOXICOLÓGICA E
UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA.**

CYNTHIA MARIA PONTES DE LIMA

**RECIFE – PE
SETEMBRO, 2007**

CYNTHIA MARIA PONTES DE LIMA

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr: DA TEORIA
MEDICINAL À INVESTIGAÇÃO TOXICOLÓGICA E
UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Avaliação e Obtenção de Produtos Bioativos e Naturais.

Orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Ivone Antônia de Souza
Co-orientador (a): Prof^ª. Dr^ª. Rinalda A. Guerra de Oliveira

RECIFE – PE
SETEMBRO, 2007

Lima, Cynthia Maria Pontes de
Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr: da
teoria medicinal à investigação toxicológica e
utilização terapêutica / Cynthia Maria Pontes de Lima.
– Recife: O Autor, 2007.
vii, 64 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2007.

Inclui bibliografia.

1. *Pithecellobium cochliocarpum* 2. Plantas
medicinais – Toxidade aguda. 3. Atividades
farmacológicas. I. Título.

615	CDU (2.ed.)	UFPE
615.9	CDD (20.ed.)	CCS2007-131

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Jane Sheila Hígino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Samuel Daniel de Sousa

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Pedro José Rolim Neto

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Beate Seagesser Santos

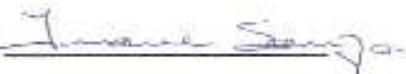


UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS

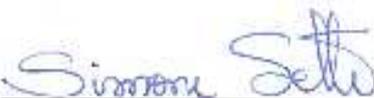
Recife, 04 de setembro de 2007.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 04 de setembro de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antonia de Souza (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: 

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Simone Sette Lopes Lafayette (Deptº de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: 

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Falba Bernadete Ramos dos Anjos (Deptº de Histologia e Embriologia da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: 

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, por toda força e incentivo; e ao meu marido Fábio, pela compreensão e amor.

AGRADECIMENTOS

Seria impossível chegar onde cheguei sem a ajuda de Deus, que me fez superar todos os problemas, me erguendo e incentivando a nunca desistir das minhas metas. Nossa vida é caracterizada pelas escolhas que fazemos, mas existem momentos em que não podemos fazê-la. Nossa família é um presente divino. Não podemos escolhê-la. Entretanto, uns têm sorte de ganhar uma família maravilhosa, outros, nem tanto. Eu posso dizer veementemente que Deus me concedeu pessoas muito especiais e tornou-as membro de minha família. Colocou-me à frente de pessoas, que hoje são meus amigos. Portanto, não poderia aqui deixar de agradecer-Lo por todas estas dádivas.

Agradeço ao meu pai, Carlos e as minhas duas mães, Maria José e Eurides, pela educação que me foi dada, carinho, compreensão e impulso nas horas de fraquejo.

Aos meus irmãos Carla e Carlos Antônio, que ao modo individual, tiveram uma importância significativa na realização desse trabalho.

A Fábio, pessoa idônea que Deus pôs em minha vida. Hoje ele se tornou meu marido e mais que isso, um companheiro e amigo com quem posso contar em todas as horas.

A minha prima Éricka e seu esposo Cláudio César, pela ajuda precisa.

A minha orientadora, Ivone Antônia de Souza, que apesar de ter uma agenda sempre cheia de compromissos, nunca deixou de se preocupar com o andamento dos trabalhos. Ao seu incentivo, amizade e orientação só me resta agradecer.

A minha co-orientadora, Rinalda Araújo de Oliveira Guerra, pela forma carinhosa que sempre me tratou.

A Professora Falba, pela forma amiga e gentil que sempre me tratou.

A Professora Simone Sette, pelos ensinamentos em aula e participação na banca examinadora.

Ao professor Sebastião Melo, por aceitar gentilmente a avaliação desse trabalho.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho: Ruth, Aldo, Elis, Isla, Rebeqa, Sérgio, Antonioni, Renata, Cleide e Ticiania. Obrigada pelos incentivos, ajuda e principalmente por aturar meu mau humor e minhas brincadeiras. Sem vocês eu não teria chegado no final deste trabalho com tamanha rapidez e sucesso. VALEU!

A famosa dupla paraibana, Pavla (Portuguesa) e Jackeline (Tiririca), por todos os bons momentos de companheirismo, risadas e reclamações das minhas cantorias.

Aos amigos que conquistei durante a graduação: Janu, Mari Marques, Mari Andrade, Tati, Cris, Marcela, Rebeca, Cinthya, Sérgio e Cléia. A vocês que sempre acreditaram em mim, meu muito obrigada!

Ao pessoal da turma fértil de Biomedicina, Dani, Denise, Cris, Arthur, Vadinho e Fernando, pelo incentivo nas horas depressivas. E ao novo membro, João Victor, pela ajuda nas traduções dos artigos.

Ao trio, que junto a mim forma o grande quarteto: Janaina, Valéria e Fabíola. Obrigada por fazerem parte da minha vida.

A professora Edna Sales por dedicar gentilmente parte do seu tempo na leitura das lâminas. Por todo apoio me dado.

A Silvana pela ajuda na confecção imprescindível das lâminas.

A Cynthia Rayol, pelos incentivos e oportunidades dadas em todos os momentos.

A Eliete Cavalcanti e Paloma Lys, por sempre terem prestado ajuda quando necessitei.

No mais, caso tenha esquecido de mencionar nomes, quero agradecer a todos aqueles que de forma direta ou indireta souberam contribuir para a realização desse trabalho.

**“NÃO SE CONTENTE EM OLHAR UM
CAMINHO ESTABELECIDO. AO
CONTRÁRIO, VÁ PARA ONDE NÃO
HÁ CAMINHO ALGUM E DEIXE SEU
RASTRO”.**

Muriel Strode

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
2.1 Família Leguminosae-Mimosoideae	7
2.1.1 <i>Pithecellobium cochliocarpum</i> (Gomez) Macbr	7
2.2 Toxicidade aguda de plantas medicinais	9
2.3 Câncer	10
2.3.1 sarcoma 180	11
2.4 Inflamação	12
3. OBJETIVO	14
3.1 Objetivo geral.....	15
3.2 Objetivos específicos	15
4. ARTIGO I: Determinação da DL₅₀ de <i>Pithecellobium cochliocarpum</i> (Gomez) Macbr..	16
Resumo	17
Abstract	17
Introdução.....	18
Material e métodos	19
Resultados.....	20
Discussão	21
Conclusão.....	22
Referências	23
5. ARTIGO II: Estudo preliminar da atividade antiinflamatória do extrato bruto etanólico de <i>Pithecellobium cochliocarpum</i> (Gomez) Macbr	28
Resumo	29
Abstract	29
Introdução.....	30
Metodologia	31
Resultados e discussão	32
Conclusão.....	34
Referências bibliográficas	34
6. ARTIGO III: Avaliação do efeito antitumoral de <i>Pithecellobium cochliocarpum</i> (Gomez) Macbr frente ao Sarcoma 180	38
Resumo	39
Abstract	39
Introdução.....	40
Material e métodos	41
Resultados.....	43

Discussão	44
Conclusão.....	46
Referências bibliográficas	46
7. CONCLUSÕES	54
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005)..... 8

Figura 2. Parte aérea da espécie *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr no seu habitat natural. A, folhas bipenadas; B, inflorescência branca ou amarelada; C, ramo vertical. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005)..... 9

Figura 3. Fruto do tipo vagem de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005)..... 9

ARTIGO I

Figura 1. Curva dose-resposta da toxicidade de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr..... 27

ARTIGO II

Figura 1. Efeito do extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87, 25,75 e 51,50 mg.kg⁻¹, administrados por via intraperitoneal, no modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar adultos. Os valores representam a média ± e.p.m. * P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo)..... 36

Figura 2. Efeito do extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87, 25,75 e 51,50 mg.kg⁻¹, administrados por via intraperitoneal, no modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratas Wistar adultas. Os valores representam a média ± e.p.m. * P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo)..... 37

ARTIGO III

- Figura 1.** Média dos pesos dos tumores. *P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo)..... 49
- Figura 2.** Aspectos histológicos do rim e coração dos animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com Metotrexato (10 mg/kg), coloração H.E. (M.O.). Em A e B, visualização de infiltrado inflamatório (setas largas). Em C, presença de vascularização congesta no rim (seta branca). Em D, visualização de infiltrado inflamatório no pericárdio (seta fina). A, B e C aumento de 400x, D aumento de 100x..... 50
- Figura 3.** Aspecto histológico do Sarcoma 180 nos animais tratados com Metotrexato (10 mg/kg), coloração H.E (M.O.). Em A, observa-se a presença de extensa necrose (ponta da seta). Em B, presença de fibrose (seta dupla). C, D e E demonstram infiltração de tecido muscular estriado esquelético (setas). Em F, infiltração adipocitária (setas largas). A, B e C, aumentos de 100x, D, E e F, aumentos de 400x..... 51
- Figura 4.** Aspecto histopatológico do baço dos animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com Metotrexato (10mg/kg). Coloração H.E. (M.O.), aumentos de 100x (B), 200x (A) e 400x (C, D, E e F). Em A e B, infiltração de células neoplásicas (setas). Em C, D e F visualiza-se células atípicas multinucleadas. A figura E demonstra a presença de um vacúolo (seta larga)..... 52
- Figura 5.** Aspecto histológico do fígado de animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com extrato de *P. cochliocarpum* (25,75 mg/kg). As figuras A e B demonstram a presença de vasos congestos (setas). Em C e D observa-se o aparecimento esteatose (ponta das setas). Em E visualiza-se o infiltrado perivascular (seta larga). Em F, observa-se a presença de uma célula atípica (seta branca). Coloração H.E. (M.O.). A, aumento de 100x; B e C, aumentos de 200x; D, E e F, aumentos de 400x..... 53

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

- Tabela 1.** Efeitos relacionados às doses administradas na fase preliminar, por via intraperitoneal, do extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr..... 25
- Tabela 2.** Efeitos relacionados às doses administradas na fase definitiva, por via intraperitoneal, do extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr..... 26

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINEs –	Antiinflamatórios não-esteróides
ANOVA –	Análise de variância
CEEA –	Comitê de Ética em Experimentação Animal
CFS –	Fator de estimulação de colônias
CL ₅₀ –	Concentração letal
COX-2 –	Ciclooxigenase tipo 2
D ₁ –	Dose mais elevada isenta de mortalidade
D ₂ –	Menor dose com 100% de óbito
DL ₁ –	Dose letal mínima
DL ₅₀ –	Dose letal que mata 50% da população
DL ₉₉ –	Dose letal máxima
EE –	Extrato etanólico
e.p.m. –	Erro padrão
g –	Gramas
HE –	Hematoxilina-eosina
i.p. –	Via intraperitoneal
IPA –	Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária
kg –	Quilograma
LTF –	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
mg –	Miligrama
mL –	Mililitro
M.O. –	Microscópio óptico
NO –	Ácido nítrico
OMS –	Organização Mundial de Saúde
p.e. –	Por exemplo
PNM –	Polimorfonucleares
p/p –	Peso por peso
p/v –	Peso por volume

SNC –	Sistema Nervoso Central
UFPE –	Universidade Federal de Pernambuco
UFPB –	Universidade Federal da Paraíba
°C –	Graus Celsius
µg –	Micrograma
µL –	Microlitro
% -	Porcentagem
Σ –	Somatório

RESUMO

LIMA, C. M. P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica e utilização terapêutica. (Dissertação) Mestrado em Ciências Farmacêuticas – UFPE – Recife, 2007.

A utilização de produtos naturais vem crescendo notadamente nestes últimos anos. A pesquisa farmacológica de plantas medicinais tem propiciado não só avanços importantes para a terapêutica de várias patologias, como também tem fornecido ferramentas extremamente úteis para o estudo teórico de fisiologia e farmacologia. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr pertencente à família Leguminosae-Mimosoideae trata-se de uma árvore de grande porte, apresentando flor esverdeada e frutos com várias sementes. Popularmente é conhecida como “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” e “barbatimam”, sendo utilizada como antiulcerogênica, antiinflamatória e cicatrizante. A pesquisa proposta avaliou a atividade toxicológica, antiinflamatória e antineoplásica do extrato etanólico da casca de *P. cochliocarpum*. Durante a atividade antineoplásica foram avaliados aspectos histopatológicos dos seguintes órgãos: fígado, baço rins e coração, além dos tumores extirpados. O ensaio toxicológico agudo visou à avaliação dos efeitos comportamentais da administração crescente das doses do extrato. Inicialmente foram observados efeitos estimulantes e após trinta minutos efeitos depressores do Sistema Nervoso Central. A dose letal (DL₅₀) do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* estimada em 257,49 mg/kg foi considerada muito tóxica (grau 4) por via intraperitoneal. Para a atividade antiinflamatória, utilizou-se o modelo de edema de pata induzida por carragenina, na qual foram administradas doses referentes a 5, 10 e 20% da DL₅₀ (12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg, respectivamente), em ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos e fêmeas. Os resultados demonstraram que não houve uma redução significativa dos volumes dos edemas nos animais machos tratados com a dose de 12,87 mg/kg do extrato bruto de *P. cochliocarpum*. A dose mais representativa, em machos, dos grupos tratados com o extrato foi de 25,75 mg/kg, obtendo uma redução significativa dos volumes dos edemas na quarta e sexta hora (com percentuais de inibição de 35,33 e 51,22%, respectivamente). Em fêmeas, a partir da terceira hora houve inibição do edema com as doses de 12,87 e 51,50 mg/kg. Para avaliação da atividade antineoplásica com a linhagem Sarcoma 180, células antitumorais foram implantadas em camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas sadias. Os animais divididos em grupos de seis, foram tratados com solução fisiológica 0,9%, metotrexato (10 mg/kg) e extrato etanólico de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg. Os animais tratados com o extrato na dose de 51,50 mg/kg obtiveram índice de inibição significativo de 39% quando comparado com o grupo controle. Para os animais tratados com metotrexato (10 mg/kg) a inibição foi de 89,02%. Os dados histológicos revelaram a presença de vasos congestos nos rins e nos corações de todos os animais manipulados. A presença de células neoplásicas nos órgãos dos animais tratados com o extrato etanólico de *P. cochliocarpum* diminuiu à medida que se aumentou a dose, no entanto, a presença de infiltrado inflamatório foi intensificada. Conclui-se que o extrato bruto etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr apresentou toxicidade elevada. As atividades antiinflamatória e antitumoral do extrato não foram satisfatórias. Sugere-se a realização de outros protocolos experimentais e outros tipos de extração que comprovem atividades farmacológicas justificando seu emprego popular.

Unitermos: *Pithecellobium cochliocarpum*, toxicidade aguda, atividade antiinflamatória, atividade antitumoral, Sarcoma 180.

ABSTRACT

LIMA, C. M. P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: from medicinal theory to the toxicological investigation and therapeutical use. Dissertation in Pharmaceutical Science – UFPE - Recife, 2007.

The use of natural products comes growing of form notable in these last years. The farmacological research of medicinal plants has propitiated not only important advances for the therapeutical one of some pathologies, as well as it has supplied to extremely useful tools the theoretical study of physiology and pharmacology. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr pertaining to the Leguminosae-Mimosoideae family is about a large tree, presenting greenish flower and fruits with some seeds. Popularly it is known as “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” and “barbatimam”, being used as antiulcerogenic, anti-inflammatory and healing. The research proposal evaluated the toxicological, anti-inflammatory and antitumor activity of the ethanolic extract of the bark of *P. cochliocarpum*. During the antitumor activity histopathological aspects of the following organs were evaluated: liver, spleen, kidneys and heart, beyond the tumors. The acute toxicology assay aimed at to the evaluation of the manning effect of the increasing administration of the doses of the extract. Initially stimulants effect had been observed and after thirty minutes effect depressors of the Central Nervous System. The lethal dose (DL₅₀) of the ethanolic extract of *P. cochliocarpum* esteem in 257,49 mg/kg was considered very toxic (degree 4) by route intraperitoneal. For the anti-inflammatory activity, carrageenan-induced hind paw edema was used, in which referring doses the 5, 10 and 20% of DL₅₀ (12,87; 25,75 and 51,50 mg/kg, respectively), were administered in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) male and female. The results had demonstrated at 12,87 mg/kg of the crude extract of *P. cochliocarpum* did not have a significant reduction of the volumes of edemas in the male animals treated. The dose most representative, in males, of the groups treated with the extract was of 25,75 mg/kg, getting a significant reduction of the volumes of edemas in the fourth and sixth hour (with percentages of inhibition of 35,33 and 51,22%, respectively). In females, from the third hour it had inhibition of edema with doses at 12,87 and 51,50mg/kg. For evaluation of the antitumor activity with the Sarcoma 180, antitumor cells were implanted in healthy female Swiss (*Mus musculus*) mice. The animals divided in groups of six, were treated with physiological solution 0.9%, methotrexato (10 mg/kg) and ethanolic extract of *P. cochliocarpum* in the doses at 12,87; 25,75 and 51,50 mg/kg. The animals dealt with the extract in the dose at 51,50 mg/kg had gotten significant index of 39% inhibition when compared with the control group. For the animals treated with methotrexate (10 mg/kg) the inhibition was of 89,02%. The histological data had disclosed to the presence of congest vases in the kidneys and the hearts of all the manipulated animals. The presence of neoplasics cells in the organs of the animals treated with the ethanolic extract of *P. cochliocarpum* diminished to the measure that if increased the dose, however, the infiltrated presence of inflammatory was intensified. One concludes that the ethanolic crude extract of *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr presented high toxicity. The activities anti-inflammatory and antitumor of the extract had not been satisfactory. It is suggested accomplishment of other experimental protocols and other types of extration that farmacological activities prove justifying its popular use.

Key words: *Pithecellobium cochliocarpum*, toxicity acute, anti-inflammatory activity, antitumor activity, Sarcoma 180.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Desde as antigas civilizações as plantas são utilizadas como fitoterápicos. Pode-se dizer que se trata de uma das primeiras manifestações do homem para compreender a natureza. Todas as civilizações, em todos os continentes, desenvolveram pesquisas para conhecer o mecanismo de suas propriedades terapêuticas (SILVA et al., 2004).

Foi através da observação e da experimentação pelos povos primitivos que as propriedades terapêuticas de determinados vegetais foram sendo descobertas e propagadas de geração em geração, fazendo parte do conhecimento popular (TUROLLA, NASCIMENTO, 2006).

Em geral o conhecimento popular é desenvolvido por grupamentos culturais que ainda convivem intimamente com a natureza, observando-a de perto no seu dia-a-dia e, explorando suas potencialidades, mantendo vivo e crescente esse patrimônio pela experimentação sistemática e constante (ELISABETSKY, 1997).

Nessa evolução, as plantas adquiriram grande importância na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas e/ou tóxicas e vêm sendo utilizadas principalmente dentro de um contexto cultural na medicina popular, na fitoterapia seguindo prescrição médica, como opção alternativa nos países mais ricos e desenvolvidos e como fonte de estruturas químicas novas pela indústria farmacêutica (REIS, MARIOT, STEENBOCK, 2000).

Dados históricos demonstram que foi a partir do uso de plantas medicinais que a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico das doenças deram seus primeiros passos (CALIXTO, 2003). O isolamento da morfina da *Papaver somniferum* em 1803 pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürner, marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como por exemplo, a quinina e a quinidina obtidas da *Cinchona* spp, em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna*, em 1831, que passaram a ser utilizadas em substituição aos extratos vegetais (SCHULZ, HÄNSEL, TYLER, 2001; TYLER 1996).

A importância histórica das substâncias ativas obtidas de plantas como protótipo para o desenvolvimento de medicamentos, não foi representada apenas pelo surgimento de

grupos novos de compostos, mas proporcionou a identificação de uma nova possibilidade de tratamento terapêutico. As opções de intervenções terapêuticas seriam muito escassas, se não fosse a descoberta dessas substâncias ativas provenientes das plantas medicinais (SIMÕES et al., 1999).

Já existe no mercado atual muitos medicamentos derivados de plantas, que foram descobertos através de estudos direcionados para o isolamento de constituintes ativos dos vegetais utilizados pela população. O agente anti-hipertensivo “reserpina”, o anticâncer “Taxol®”, os agentes antileucêmicos “vimblastina” e “vincristina”, e o “psolarem”, empregado no tratamento do vitiligo, são alguns exemplos desses produtos (DAVID, NASCIMENTO, DAVID, 2004; MULLER, MACEDO, 2005).

Entretanto, poucas espécies vegetais ainda não são conhecidas do ponto de vista químico e farmacológico e uma análise fitoquímica poderá proporcionar o conhecimento de novas drogas, talvez até mais potentes do que as usadas atualmente (DE PAIVA, FIGUEIREDO, KAPLAN, 2005).

Desde a última década tem sido dada uma atenção crescente quanto ao uso da medicina não-convencional, utilizada em muitos países desenvolvidos (ELIAS, ALVES, 2002). O estímulo ao uso dos fitoterápicos tem como objetivo: prevenir, curar ou minimizar os sintomas das doenças, com um custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles obtidos por síntese química, que são, em geral, mais caros, devido às patentes tecnológicas envolvidas (TOLEDO et al., 2003).

O uso de plantas no tratamento de doenças, no Brasil, apresenta influência da cultura indígena, africana e européia. Essas influências formam a base da medicina popular brasileira (CRESTANI et al., 2005). É bem verdade que o número de plantas estudadas cresce a cada ano. Esse fato encontra-se associado ao crescimento do interesse da indústria farmacêutica pelo uso da biodiversidade como fonte de novos medicamentos (CORDELL, 1995). No entanto, nos últimos vinte anos no Brasil, país com a maior diversidade vegetal do mundo, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido apenas 8% anualmente. Isso mostra que em um país biologicamente tão rico, mas com ecossistemas tão ameaçados, pesquisas com plantas medicinais, e, mesmo tóxicas, deveriam ser mais incentivadas (MARIZ et al., 2006).

Não há dúvidas de que a medicina complementar na qual se inclui o tratamento com plantas medicinais se tornou um grande negócio (ERNEST, 2001). Atualmente, as maiores indústrias farmacêuticas mundiais possuem programas de pesquisa na área de produtos naturais (CALIXTO, 2003).

Sabe-se que muitas plantas medicinais apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas, seja por seus próprios componentes, seja pela presença de contaminantes ou adulterantes presentes nas preparações fitoterápicas, exigindo um rigoroso controle de qualidade desde o cultivo, coleta da planta, extração de seus constituintes, até a elaboração do medicamento final (TUROLLA, NASCIMENTO, 2006).

Os dados existentes na literatura sobre a atividade biológica de plantas preconizadas pela população, denominadas de plantas medicinais, são insuficientes para garantir sua qualidade, eficácia e segurança (CALIXTO, 2000).

Toxicidade de uma substância é a capacidade intrínseca da mesma de afetar negativamente ou causar dano a um organismo. Esta avaliação é realizada com o objetivo de determinar o potencial das drogas e produtos relacionados. Testes que avaliam a toxicidade sistêmica aguda são utilizados para classificar e apropriadamente rotular substâncias de acordo com o seu potencial de letalidade ou toxicidade como estabelecido pela legislação (LOPES; VALADARES, 2006).

Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como as ações sinérgicas (interação com outras drogas) ocorrem comumente (VEIGA-JÚNIOR et al, 2005).

A associação de plantas medicinais na preparação de remédios caseiros, bem como a utilização das mesmas com medicamentos, é uma prática comum nas comunidades (OLIVEIRA, 2006). Essas interações podem beneficiar a terapêutica, potencializando o efeito dos medicamentos (sinergismo) e reduzindo seus efeitos colaterais ou pode antagonizar os efeitos terapêuticos, causando a redução da eficácia do tratamento ou a exacerbação da toxicidade dos fármacos (SUCAR, 2003; VEIGA-JUNIOR et al., 2005).

A grande incidência de efeitos colaterais dos medicamentos de síntese desencadeou uma fuga do usuário para produtos alternativos como os fitoterápicos, com a falsa idéia da menor incidência de efeitos indesejados. A utilização desses produtos pela população

somente passa a ter um valor agregado e podem ser considerados como medicinais após a realização das pesquisas que validam os seus usos populares. Essa validação será comprovada pela demonstração científica e pela determinação da sua segurança - toxicidade tolerável (LAPA et al., 2000).

Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para a sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006). Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% são originárias de plantas e um número significativo são drogas sintéticas de precursores naturais (RATES, 2001).

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, etc, tem sido objeto de incessantes estudos, onde já foram comprovadas as ações farmacológicas através de testes pré-clínicos com animais (CECHINEL-FILHO; YUNES, 1998). A elucidação destes componentes ativos presentes nas plantas bem como seus mecanismos de ação vêm sendo um dos maiores desafios para a química farmacêutica, bioquímica e farmacologia (MACIEL et al, 2002).

As potencialidades de usos das plantas medicinais encontram-se longe de estar esgotadas. Novos conhecimentos e novas necessidades certamente encontrarão, no reino vegetal, soluções por meio da descoberta e do desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica ou com aplicações tanto na tecnologia farmacêutica quanto no desenvolvimento de fitoterápicos com maior eficiência de ação (SCHENKEL, et al., 2003).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Família Leguminosae-Mimosoideae

Essa família é composta por cerca de 600 gêneros que reúnem mais de 13.000 espécies, distribuídas mundialmente, exceto nas zonas glaciais e está muito bem representada na flora brasileira. Divide-se em três subfamílias: Mimosoideae, Caesalpinoideae e Papilionoideae (ou Faboideae). A subfamília Mimosoideae, que reúne cerca de 40 gêneros e 2000 espécies, é a menor subfamília dentre as Leguminosae. (SARMENTO, 1999 apud OLIVEIRA, 2006).

Dentre as espécies pertencentes à família Leguminosae-Mimosoideae, destaca-se o *Stryphnodendron adstringens*, que é tradicionalmente usado pela população para o tratamento de leucorréia e diarreia, bem como agente antiinflamatório e cicatrizante (DE MELLO et al. 1996; SANTOS et al. 1987).

No gênero *Pithecellobium*, são encontradas espécies arbóreas, de copa larga, com folhas bipenadas e flores em capítulos globosos, onde o fruto é uma vagem com sementes em várias fileiras (SARMENTO, 1999 apud OLIVEIRA, 2006).

De acordo com Bautista-Baños, et al. (2003), esse gênero apresenta um potencial antimicrobiano comprovado em ensaios de *P. dulce* contra fungos prejudiciais à agricultura, *Botrytris cinera*, *Penicilium digitatum* e *Rhizopus stolonifer*. Já a espécie *P. racemosum* foi ativa contra *Treponema mentagrophytes*, *Candida albicans* e *Streptomyces cerevisiae*.

2.1.1 *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr (figura 1), é uma árvore de grande porte conhecida popularmente como “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” e “barbatimam”. Possui folhas bipenadas (figura 2A) e flores brancas amareladas ou esverdeadas (figura 2B). O fruto é uma vagem (figura 3), onde a semente, bicolor, está disposta em várias fileiras. O *screening* fitoquímico dos extratos hidroalcoólicos das cascas e das folhas apresentou testes positivos para saponinas, flavonóides e taninos. A presença de alcalóides foi muito discreta (SARMENTO, 1999).

Oliveira; Silva (1994) relatam que as cascas de seu caule são utilizadas como medicinal, externamente, para o tratamento de feridas. Para uso interno utilizam-se as cascas preparadas na forma de infuso, decocto, tintura, vinhos e garrafadas como antiinflamatório.

Estudos feitos por Pereira et al. (2005) revelaram a utilização pela população da combinação de *P. cochliocarpum* com *Anacardium occidentale* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi no tratamento de doenças dermatológicas.

De acordo com Oliveira (2006) o extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* causou inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* na concentração de 5.000 µg/mL, porém não apresentou atividade sobre bactérias Gram negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

Trabalhos feitos por Sarmiento (1999, apud OLIVEIRA, 2006) com a partição clorofórmica do extrato hidroalcoólico e butanólica da casca de *P. cochliocarpum* resultou numa potente atividade sobre *S. aureus*.

Segundo Oliveira (2006), *P. cochliocarpum* apresentou uma CL₅₀, no bioensaio com *Artemia salina* L, de 543,5 µg/mL sugerindo, assim, uma toxicidade relativamente baixa.



Figura 1. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005).

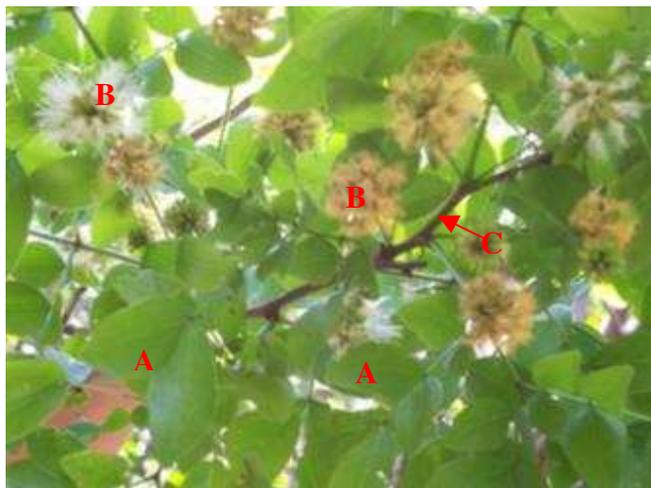


Figura 2. Parte aérea da espécie *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr no seu habitat natural. A, folhas bipinadas; B, inflorescência branca ou amarelada; C, ramo vertical. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005).



Figura 3. Fruto do tipo vagem de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. Fonte: Fernando Antônio Cavalcanti Viana (João Pessoa, PB – 06/10/2005).

2.2 Toxicidade aguda de Plantas medicinais

Toda planta medicinal é um xenobiótico e, como todo corpo estranho, os produtos de sua biotransformação são potencialmente tóxicos (LAPA et al., 2000). Uma vasta gama de compostos orgânicos naturais de origem vegetal, produtos do metabolismo primário e secundário, é biologicamente ativa, e pode exercer um efeito benéfico ou maléfico sobre um

determinado ser vivo, seja ele animal, vegetal ou microrganismo. Portanto, a idéia de que os produtos vegetais são seguros e livre de efeitos colateral é falsa (DIMECH, 2003).

Para Turollo, Nascimento (2006), as plantas medicinais apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas, seja de seus próprios componentes, seja pela presença de contaminantes, ou até mesmo, resultado das preparações caseiras duvidosas e também os adulterantes contidos em fitoterápicos já comercializados. No entanto, os efeitos adversos dos agentes fitoterápicos são menos frequentes quando comparados com as drogas sintéticas (CALIXTO, 2000).

As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização, pelos órgãos oficiais, nas feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (VEIGA-JÚNIOR et al, 2005).

A toxicidade aguda é um estudo conduzido antes que os ensaios farmacológicos sejam iniciados, e representa uma avaliação estimativa e preliminar das propriedades tóxicas de um fitoterápico, fornecendo informações acerca dos riscos sobre a saúde, resultantes de uma exposição de curta duração pela via selecionada (DI STASI, 1996).

Com o objetivo de determinar a sintomatologia em curto prazo após a administração de um composto, bem como o binômio dose-efeito letal, estimou-se um parâmetro denominado dose letal 50%, mais conhecida como DL_{50} (BARROS, DAVINO, 2003). De acordo com Trevan (1927, apud SILVA, 2006), os valores em torno da DL_{50} são menos variáveis do que aqueles em torno da DL_1 ou DL_{99} .

2.3 Câncer

O termo tumor é um termo muito vago, significando apenas uma elevação do tecido. O termo neoplasia é usado mais corretamente para designar a proliferação tecidual, sempre acompanhado das palavras benigna ou maligna, expressando assim, o comportamento biológico de tais lesões. Já o termo câncer serve para designar claramente as neoplasias malignas (BARACAT, JUNIOR, SILVA, 2000).

As neoplasias, tanto benignas quanto malignas, são doenças genéticas cujas mutações que lhes dão origem podem ser hereditariamente transmitidas pela linhagem germinativa ou adquiridas pelos tecidos somáticos (ISSELBACHER, 1995).

De acordo com Alberts et al. (1997), à medida que as células permanecem agrupadas numa massa única, o tumor é dito benigno. A maior distinção entre tumores malignos e benignos está na forma invasiva e a habilidade do tumor maligno em invadir outras regiões do corpo num processo denominado de metástase (ASSEF, et al., 2002).

A designação dos tumores baseia-se na sua histogênese. Nos tumores benignos, a nomenclatura se faz acrescentando o sufixo -oma à palavra que designa o tecido que o originou. Quanto aos tumores malignos, é necessário considerar a origem embrionária dos tecidos de que deriva o tumor (CONTROLE DO CÂNCER, 1990). Segundo Alberts et al. (1997), cânceres que se originam de células epiteliais são chamados carcinomas; aqueles que se originam de tecidos conjuntivos ou musculares são denominados sarcomas.

2.3.1 Sarcoma 180

O Sarcoma 180, a princípio conhecido como tumor de Crocker, é um tumor indiferenciado, descoberto em 1914 no Godcer Laboratory (Columbia University, NY). Foi encontrado inicialmente como uma massa sólida localizada na região axilar de um camundongo albino (SIGIURA, 1965).

De acordo com Bucchi (2002), suas células são de fácil obtenção já que são usadas em estudos de vários centros de pesquisa e, após a inoculação no camundongo, desenvolve-se o tumor em 90% a 100% dos casos.

Zuckerberg (1973) estudando a morfologia do Sarcoma 180 encontrou características que possibilitaram sugerir uma origem epitelial para este tumor sólido de camundongo. Entretanto, após vários transplantes subcutâneos, observou-se que suas características morfológicas e seu comportamento eram peculiares de um tumor sarcomatoso, passando a ser chamado Sarcoma 180 (SUGIURA et al., 1994).

Estudos de microscopia eletrônica mostraram contatos intercelulares característicos de células de origem epitelial, indicando ser esta neoplasia um carcinoma. No entanto, outros estudos demonstraram que suas células não produzem laminina, o que não permite sua caracterização como de origem epitelial (BUCCHI, 2002).

Rodrigues (2001) relatou que esse tumor apresenta muita aderência à camada muscular superficial onde está localizado (preferencialmente na região axilar direita) dificultando, às vezes, sua remoção.

O tumor indutor pode ser transplantado por inoculação subcutânea, intramuscular ou intraperitoneal e cresce rapidamente em 90% a 100% dos animais inoculados, havendo regressão natural em 8% a 10% desses. Em geral ocorre ulceração da pele ao redor do 28º dia após a inoculação subcutânea e os animais morrem em geral entre o 28º e o 30º dia (KAWAKUBO et al., 1980; ZUCKERBERG, 1972).

De acordo com Assef et al. (2002) a regressão do tumor pode ser aumentada fazendo tratamento com substâncias químicas ou biológicas.

2.4 Inflamação

A capacidade de gerar uma inflamação é fundamental para sobrevivência e consiste na primeira linha de defesa do organismo. Seu objetivo é basicamente, localizar a região afetada, eliminar o agente agressor e remover os tecidos degenerados, preparando a região acometida para a reparação. Entretanto, em algumas situações e doenças, a resposta inflamatória torna-se exagerada, persistindo sem qualquer benefício aparente (SILVA, CARVALHO, 2004; SIQUEIRA, DANTAS, 2000).

Trata-se de um processo complexo, onde está freqüentemente associado com dor e vários eventos, como: o aumento da permeabilidade vascular, aumento da migração de granulócitos e monócitos, bem como proliferação de tecido granulomatoso (ANDRADE, et al., 2007).

A inflamação costuma ter três fases: a inflamação aguda, a resposta imune e a inflamação crônica. A inflamação aguda refere-se à resposta inicial à lesão tecidual; é mediada pela liberação de substâncias como histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas e leucotrienos, e, em geral, precede o desenvolvimento da resposta imune. A resposta imune aparece, quando as células imunologicamente competentes são ativadas em resposta a organismos estranhos ou substâncias antigênicas, liberadas durante a resposta inflamatória aguda ou crônica. A inflamação crônica envolve a liberação de diversos mediadores que não são proeminentes na resposta imune, como por exemplo, o interferon e interleucinas (SILVA et al., 2002).

Segundo Silbernagl, Lang (2006), uma inflamação aguda se expressa como uma reação local associada com os sintomas, conhecidos desde a antiguidade, de dor (dolor), edema (tumor), avermelhamento (rubor) e aquecimento (calor).

É importante salientar que sempre que qualquer tecido estiver lesado, o organismo reage para desencadear o estímulo doloroso como um mecanismo de proteção (MILLAN, 2002).

Uma vez que a dor associada a diferentes condições patológicas representa o sintoma que mais causa sofrimento aos pacientes, diferentes abordagens terapêuticas têm sido usadas com o objetivo de atenuá-la. Entre as diferentes classes farmacológicas ou grupos terapêuticos que têm sido usados com o objetivo de aliviar a dor, podem ser mencionados os antiinflamatórios não-esteróides (AINEs), os analgésicos opióides, os antagonistas α_2 -adrenérgicos, os antiepilépticos, os antidepressivos e, mais recentemente as vitaminas do complexo B (BERTOLLO, 2006).

Os compostos antiinflamatórios podem agir de várias maneiras no processo fisiopatológico. Por exemplo, um composto poderia bloquear a biossíntese de mediadores pró-inflamatórios diretamente na interação com sua enzima específica (p.e. inibição da COX-2) ou por diminuição da expressão enzimática (p.e. antiinflamatórios não-esteróides), ou até mesmo reduzindo os níveis de substrato (p.e. diminuição da liberação de ácido araquidônico) (SAFAIHY, SAILER, 1997).

3. OBJETIVO

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

- § Avaliar a toxicidade aguda, atividade farmacológica (antiinflamatória e antitumoral com estudo histopatológico de tumores e órgãos) do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr.

3.2 Objetivos específicos

- § Avaliação da toxicidade aguda do extrato bruto etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr;
- § Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr, através de edema de pata por carragenina;
- § Análise da atividade antitumoral do extrato bruto etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr frente ao Sarcoma 180.
- § Estudo histopatológico dos tumores Sarcoma 180 e órgãos (fígado, baço, rins e coração).

4. ARTIGO I

Artigo submetido à Revista Brasileira de Farmacognosia

Determinação da DL₅₀ de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr

Cynthia M. P. de Lima^{1*}, Ana R. S. Grangeiro¹, Aldo C. P. da Silva¹, Jackeline G. da Silva¹, Ana P. A. D. Gurgel¹, Rinalda A. G. Oliveira², Ivone A. de Souza¹

1-Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-521, Recife-PE, Brasil.

2- Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil.

RESUMO

Pesquisas com plantas medicinais e fitoterápicos vêm obtendo grande relevância entre os pesquisadores, que buscam novos produtos farmacêuticos com baixa toxicidade e grande eficácia. O uso de ervas e partes de vegetais pela população é corriqueiro, o que desperta a atenção e o cuidado dos profissionais da saúde. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a toxicidade aguda do extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr através da sua dose letal (DL₅₀). Foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas, pesando entre 25 a 35 g, nos quais foram administradas doses que variaram de 100 a 600 mg/kg. Os sinais comportamentais dos animais foram avaliados durante uma hora após a administração do extrato etanólico de *P. cochliocarpum*, ficando em observação até 48 horas. O número de óbitos foi quantificado para posterior cálculo da DL₅₀. O extrato demonstrou ser muito tóxico, com visualização de sinais intensos de estimulação inicial e posterior depressão do sistema nervoso dos animais.

Unitermos: *Pithecellobium cochliocarpum*, DL₅₀, toxicidade, aguda.

ABSTRACT

Research of medicinal herbs and fitotherapics are obtaining great relevance among researchers, who are constantly searching for new pharmaceutical products of low toxicity and great effectiveness. The use of herbs and vegetable parts by the population is current, what it awakes the attention and the care of the professionals of the health. The aim of the present work was to evaluate the acute toxicity of ethanolic extract of *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr through its lethal dose. For this research, female Swiss mice (*Mus musculus*) where used, weighting between 25g and 35g. They were injected with varying doses from 100 to 600 mg/kg. The behavior of these animals was monitored for one hour right after administration of ethanolic extract of *P. cochliocarpum*, thus remaining in observation for 48 hours. The number of deaths was registered for calculation of LD₅₀. The extract proved to be very toxic, for it was clearly observed that the animals were showing intense initial stimulation signs and later depression of the nervous system.

Keywords: *Pithecellobium cochliocarpum*, LD₅₀, toxicity acute.

INTRODUÇÃO

Desde tempos antigos, as plantas são usadas na medicina popular para o tratamento de diversas doenças. Entretanto, apenas recentemente, a farmacologia e a toxicologia dessas plantas têm recebido a atenção dos cientistas para a verificação de suas propriedades farmacológicas e/ou terapêuticas, para o isolamento de seus constituintes ativos, e para a investigação de possíveis toxicidades (REBECCA, 2002).

Para Rates (2001), esse aumento do interesse pelas plantas tem sido significativo para a origem de novos fármacos. Toledo (2003) acredita que o estímulo ao uso dos fitoterápicos tem como objetivos a prevenção, a cura ou a minimização dos sintomas das doenças, com um custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles obtidos por síntese química, que são, em geral, mais caros, devido às patentes tecnológicas envolvidas.

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr é uma árvore de grande porte pertencente à família Leguminosae-Mimosoideae, amplamente utilizada pela população devido a sua atividade cicatrizante, antiinflamatória e antiulcerogênica. É conhecida no meio popular como babatenon, babatimão ou barbatimão. Suas flores são brancas amareladas ou esverdeadas e a semente é bicolor. O *screening* fitoquímico dos extratos hidroalcoólicos das cascas e das folhas apresentou testes positivos para saponinas, flavonóides e taninos (SARMENTO, 1999).

P. cochliocarpum é também conhecida como *Mimosa cochliocarpos* Gomes e *Abarema cochliocarpos* (Gomes). Podem ser encontradas nos estados de Alagoas, Bahia, Paraíba, Pernambuco e Rio de Janeiro (GRIN, 2005).

As cascas de seu caule são utilizadas como medicinal, externamente, para o tratamento de feridas na forma de decocto. Para uso interno utilizam-se as cascas preparadas na forma de infuso, decocto, tintura, vinhos e garrafadas como antiinflamatório (OLIVEIRA & SILVA, 1994).

Esse trabalho visou a avaliação da toxicidade aguda em camundongos através da determinação da DL₅₀ intraperitoneal do extrato etanólico das cascas do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr.

MATERIAL E MÉTODOS

Vegetal

O extrato de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr foi fornecido pelo Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. A espécie arbórea foi coletada no Jardim da Cidade Universitária, em João Pessoa-PB, com exsicata número 61.336, determinada pela botânica Dr^a Rita de Cássia A. Pereira.

As cascas de *P. cochliocarpum* foram desidratadas em estufa com ar circulante a 38 °C, por 72 horas e trituradas em moinho tipo Harley. Em seguida foram submetidas à maceração por percolação, até obter uma coloração clara. Utilizou-se etanol 95% (p/p) como líquido extrator. O mesmo foi evaporado em rotavapor, fornecendo resíduo escuro e higroscópico.

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), fêmeas, obtidas no Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco, com aproximadamente 60 dias de nascidos e peso variando entre 25 e 35g. Os mesmos foram mantidos em gaiola de polipropileno, em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro) e temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). O protocolo obteve a permissão do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco (protocolo número 041544/2006-47).

Estudo toxicológico

Para cada grupo, foram utilizados 6 animais devidamente identificados. Antes do tratamento, os mesmos foram privados da alimentação por um período de 12 horas recebendo água *ad libitum*. O ensaio foi efetuado em duas fases sendo uma preliminar e outra definitiva. Inicialmente, o extrato etanólico (EE) de *P. cochliocarpum* liofilizado foi dissolvido em solução salina a 0,9% de acordo com as doses estudadas. Na primeira fase, a preliminar, o extrato de *P. cochliocarpum* foi administrado por via intraperitoneal (i.p.) em doses crescentes procurando-se obter a dose mais elevada isenta de mortalidade (D_1) e a menor dose capaz de levar a óbito 100% dos animais (D_2). Já na fase definitiva, os animais receberam doses (i.p.) compreendidas entre D_1 e D_2 obedecendo a uma progressão

geométrica de ordem 0,5. A partir desses dados, a DL_{50} foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$DL_{50} = Df - \frac{\Sigma (a-b)}{n}$$

Onde:

Df = dose mínima capaz de matar todos os animais;

a = diferença entre as duas doses consecutivas administradas;

b = média de animais mortos entre as duas doses consecutivas;

n = número de camundongos por lote.

RESULTADOS

Na fase preliminar foram administradas doses variadas expressada na tabela 1, onde determinou-se a D_1 (dose máxima isenta de mortalidade) de 160 mg/kg e D_2 (dose mínima capaz de levar a óbito 100% dos animais) de 414,72 mg/kg. Na tabela 2, onde estão expressos os sinais de toxicidade da fase definitiva, foram observados inicialmente após administração do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* efeitos estimulantes como: taquicardia, taquipnéia, tremores finos e grosseiros, movimentos circulares, exoftalmia e movimentos estereotipados. Após cerca de 30 minutos da administração verificou-se a presença de sinais depressivos pouco expressivos visualizados em todas as doses tais como: abaixamento dos membros posteriores, apnéia e alteração de marcha. Todos os sinais clínicos observados sobre o sistema nervoso central aumentaram conforme o aumento das doses.

A partir da dose de 155 mg/kg foram observados efeitos sobre o trato gastrointestinal como: distensão abdominal, contorções e diminuição da excreção fecal. Piloereção, edema de focinho, palidez, fotofobia e cianose foram verificados na maior parte dos animais de cada grupo. Esses efeitos periféricos foram acentuando-se conforme o aumento das doses.

Tabela 1.

Tabela 2.

A taxa de mortalidade do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* evoluiu com o aumento das doses conforme demonstrado na curva dose-resposta (figura 1). As doses acima de 414,72 mg/kg foram capazes de matar 100% dos animais tratados com o extrato etanólico de *P. cochliocarpum*. A DL₅₀ encontrada foi de 257,49 mg/kg.

Figura 1.

DISCUSSÃO

O uso de plantas pode representar uma alternativa de substituição aos anti-sépticos e desinfetantes sintéticos convencionais, visando evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana a estes compostos, uma vez que metabólitos vegetais atuam por mecanismos variados (BARBOUR et al., 2004; MONTHANA, LINDEQUIST, 2005).

No entanto, produtos fitoterápicos são, algumas vezes, erroneamente considerados como seguros porque são de origem natural (GESLER, 1992). Segundo Bent & Ko (2004), esses produtos contêm princípios bioativos capazes de causar efeitos adversos.

De acordo com Talalay & Talalay (2001), todo produto natural usado em terapêutica deveria ser submetido a testes de eficácia e segurança por métodos iguais aos usados por novas drogas sintéticas. Por motivos éticos, morais e legais, a obtenção de dados toxicológicos em seres humanos é bastante limitada. Com isso, as informações toxicológicas sobre compostos químicos são obtidas basicamente a partir de testes toxicológicos pré-clínicos, ou seja, com animais de laboratórios em condições previamente padronizadas (MORTON, 1998, BOELSTERLI, 2003).

Sugere-se que as reações comportamentais observadas após a administração intraperitoneal do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* decorre de alterações do equilíbrio dos neurotransmissores excitatórios e inibitórios. Inicialmente as doses demonstraram ser estimulantes devido à liberação de neuro-transmissores excitatórios e/ou inibição da recaptação desses. A inibição da recaptação aumenta a concentração dos neurotransmissores em contato com os receptores, incrementando, assim, a atividade do circuito neuronal (SILVA, 2002). No entanto, os efeitos depressores estiveram presentes e não foram tão pronunciados como os estimulantes, possivelmente pelo esgotamento parcial

das vesículas sinápticas dos neurotransmissores excitatórios, ou uma estimulação prolongada direta de neuro-transmissores inibitórios.

De acordo com Oliveira (2006), *P. cochliocarpum* apresentou uma CL_{50} de 543,5 $\mu\text{g/mL}$ em ensaios realizados com *Artemia salina* L, sugerindo uma toxicidade relativamente baixa.

Quimicamente constituída de saponinas, flavonóides e taninos (SARMENTO, 1999), as cascas do caule de *P. cochliocarpum* são utilizadas pela população no tratamento de feridas. Melo et al. (2007) afirmaram que as saponinas, por serem capazes de formar complexos com esteróides e fosfolípídeos das membranas das células da mucosa intestinal, causam uma irritação na mesma. Essa propriedade irritante sobre a mucosa possivelmente justifica o aumento das contorções abdominais à medida que aumentou a dose.

Os taninos são compostos responsáveis pela adstringência de muitos frutos e plantas em geral, devido à sua complexação com proteínas, que é à base de algumas de suas propriedades biológicas, tais como controle de insetos fungos e bactérias (AERTS, BARRY, MCNABB, 1999). A diminuição da excreção fecal pode ser observada com o aumento das doses do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* provavelmente pela presença de taninos. Devido ao alto peso molecular, essas moléculas estão relacionadas com a inibição da digestibilidade (MONTEIRO et al., 2005).

A presença de intensa taquicardia durante todo o período do ensaio, mesmo na fase final, na qual se verificou depressão do sistema nervoso, deve-se provavelmente à presença de taninos no extrato etanólico de *P. cochliocarpum*. Para Alice (1995), o uso excessivo de produtos de plantas ricas em taninos por via oral pode ser perigoso ao músculo cardíaco, o que justifica a taquicardia observada na administração das doses intraperitoneais do extrato.

De acordo com Pinto et al. (2001), o efeito tóxico dos taninos, causado pela absorção intestinal dos produtos finais da hidrólise, ocasiona hemorragias, gastroenterites, necrose hepática e nefrites, entre outros. A administração do extrato nos animais provocou, na maioria das doses utilizadas, a ausência de micção.

CONCLUSÃO

A determinação da DL_{50} pelo método matemático de Karber e Behrens (1964) é considerado um parâmetro básico para avaliação de doses intermediárias. Na primeira fase

da toxicidade aguda (D₁ e D₂) verificou-se que as extremidades das doses não causaram muitas diferenças relacionadas às reações comportamentais. Os resultados demonstraram que o extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr possui uma dose letal (DL₅₀) estimada em 257,49 mg/kg, sendo considerada de acordo com a escala de Schuartsman (1980) como muito tóxico (grau 4 de toxicidade) para administração via intraperitoneal. O extrato bruto da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr demonstrou ser muito tóxico e pelos efeitos observados sugere-se a presença de substâncias ativas no Sistema Nervoso Central.

A grande utilização desse vegetal com fins terapêuticos, pela população, deixa sugestivas opções para futuros trabalhos, que visem ao encontro de uma nova atividade farmacológica.

REFERÊNCIAS

AERTS TJ, BARRY TN, MCNABB WC 1999. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.75, p.1-12.

ALICE BC 1995. *Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacológico*. Canoas: editora da ULBRA.

BARBOUR EK, AL SHARIFA M, SAGHERIANA VK, HABREA AN, TALHOUK RS, TALHOUK SN 2004. Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 93: 1-7.

BENT S, KO R 2004. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. *The American Journal of Medicine* 116, 478-485.

BOELSTERLI UA 2003. Animal models of human disease in drug safety assessment. *J. Toxicol. Sci.*, v.28, n.3, p.109-121.

GESLER WM 1992. Therapeutic landscapes: medical issues in light of the new cultural geography. *Social Science and Medicine* 34, 735-746.

GRIN 2005. *Germplasm Resources Information Network*. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Internet, 2005. Disponível em: http://www.ars-grin.gov/npgs/sbml/jhw/public_html/cgi-bin/family.pl?440. Acesso em: 03.Out.2005.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

KARBER G, BEHRENS B 1964. *Estatistical Methods in Biological Assays*. London: Ed. Griffin Ch. And C.

MELO DS, CORRÊA AD, MARCOS FCA, SOUSA RV, ABREU CMP, SANTOS CD 2007. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico sanguíneo e o peso do fígado de ratos. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 2, p. 420-428.

MONTEIRO JM, ALBUQUERQUE UP, ARAÚJO EL, AMORIM ELC 2005. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 5, 892-896.

MONTHANA RAA, LINDEQUIST U 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol* 96: 177-181.

MORTON DM 1998. Importance of species selection in drugtoxicity testing. *Toxicol. Lett.* v.102-103, p.545-550.

OLIVEIRA RAG, SILVA MSH 1994. *Plantas medicinais na atenção primária à saúde*. João Pessoa, UFPB, Série Extensão, n.1, p. 50-57.

PINTO LGQ, PEZZATO LE, MIRANDA EC, et al. 2001 Desempenho do piauçu (*Leporinus macrocephalus*) arraçoado com dietas contendo diferentes teores de tanino. *Rev. Bras. Zootec.* v.30, n.4, p.1164-1171. ISSN 1516-3598.

RATES SMK 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39, 603–613.

REBECCA MA, et al. 2002. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology* 83, 101-104.

SARMENTO DMA 1999. Isolamento e identificação de substâncias bioativas de *Pithecellobium cochliocarpum* Mart, 86p. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa.

SCHUARTSMAN S. 1980. Produtos químicos de uso domiciliar – segurança e riscos toxicológicos. São Paulo: Almed, 92 p.

SILVA P 2002. *Farmacologia*, 6 ed., Rio de Janeiro/RJ: Ed. Guanabara, p.334

TALALAY P, TALALAY P 2001. The importance of using scientific principles in the development of medicinal agents from plants. *Academic Medicine* 76, 238–247.

TOLEDO ACO, et al. 2003. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. *Revista Lecta*, Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2, p. 7-13.

Tabela 1. Efeitos relacionados às doses administradas na fase preliminar, por via intraperitoneal, do extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr.

EFEITOS	DOSES (mg/kg)						
	100	155	160 (D ₁)	400	414,72 (D ₂)	480	600
ESTIMULANTES							
Taquicardia	-	++	+++	+++	+++	+++	+++
Taquipnéia	-	++	++	+++	+++	+++	+++
Piloereção	+	+	+	+	+	+	+
Agitação	-	-	-	+	+	++	++
Exoftalmia	-	+	+	+	+	+	+
Movimentos Estereotipados	-	+	+	+++	++	+++	+++
Movimentos circulares		++	++	++	+++	+++	+++
Movimentos de vibrissas	-	+	+	+	+	+	+
Ondulação caudal	-	-	+++	-	-	-	-
Ereção de cauda	-	+	+	+	+	+	+
Tremores finos/grosseiros	-	++	++	-	+++	++	+++
Postura de ataque	-	-	-	++	-	+	+
Levantamento dos membros posteriores	-	+	+	+	+	+	+
Convulsão focal	-	-	-	-	-	-	-
DEPRESSORES							
Abaixamento dos membros posteriores	-	-	-	+	-	+	+
Apnéia	-	-	-	+	++	+	-
Alteração de marcha	+	+	+	+	+	+	+
Sonolência	-	-	-	-	-	-	-
Prostração	-	-	+	-	-	-	-
OUTROS							
Excreção fecal	+	+	++	+	+	+++	-
Diurese	+	-	-	+	-	-	-
Contorções abdominais	-	++	+++	+++	+++	+++	+++
Espasmos	-	++	+++	+++	+++	+++	++
Reação de fuga	-	+	+++	+++	+++	++	+++
Palidez	-	+	+	+	+	+	++
Distensão abdominal	-	+	+	+	+	++	++
Petéquias	-	-	+	+	+	+	+
Edema de focinho	-	-	+	+	+	+	+
Cianose	-	-	+	-	+	++	++
Fotofobia	-	-	+	+	+	+	+
Refluxo	-	-	-	-	+	-	-

(-) sem efeito; (+) efeito leve; (++) efeito moderado; (+++) efeito acentuado.

Tabela 2. Efeitos relacionados às doses administradas na fase definitiva, por via intraperitoneal, do extrato etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr.

EFEITOS	DOSES (mg/kg)						
	165	168	176	192	240	288	345,6
ESTIMULANTES							
Taquicardia	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Taquipnéia	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Piloereção	+	+	++	+	+	++	+
Agitação	+	-	-	+	++	+	+
Exoftalmia	+	+	+	+	+	+	+
Movimentos Estereotipados	+	+	++	+++	+	++	++
Movimentos circulares	++	+	++	+++	++	++	++
Movimentos de vibrissas	+	+	+	+	+	+	+
Ondulação caudal	++	+	-	+	-	-	-
Ereção de cauda	+	+	+	+	+	+	+
Tremores finos/grosseiros	++	++	+++	++	+++	++	+++
Postura de ataque	+	-	-	+	+	+	+
Levantamento dos membros posteriores	+	+	+	+	+	+	+
Convulsão focal	-	-	+	+	+	-	-
DEPRESSORES							
Abaixamento dos membros posteriores	+	+	+	+	-	-	-
Apnéia	+	+	+	+	+	++	++
Alteração de marcha	+	+	+	+	+	+	+
Sonolência	-	-	-	-	-	-	-
Prostração	+	+	+	-	-	-	-
OUTROS							
Excreção fecal	+	+	+	+	+	+	+
Diurese	-	-	-	+	+	+	+
Contorções abdominais	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Espasmos	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Reação de fuga	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Palidez	+	+	+	+	+	+	+
Distensão abdominal	+	+	+	+	+	+	+
Petéquias	-	-	-	+	+	-	+
Edema de focinho	+	+	+	+	+	+	+
Cianose	+	+	+	+	+	+	+
Fotofobia	+	+	+	+	+	+	+
Refluxo	+	-	-	-	-	-	-

(-) sem efeito; (+) efeito leve; (++) efeito moderado; (+++) efeito acentuado.

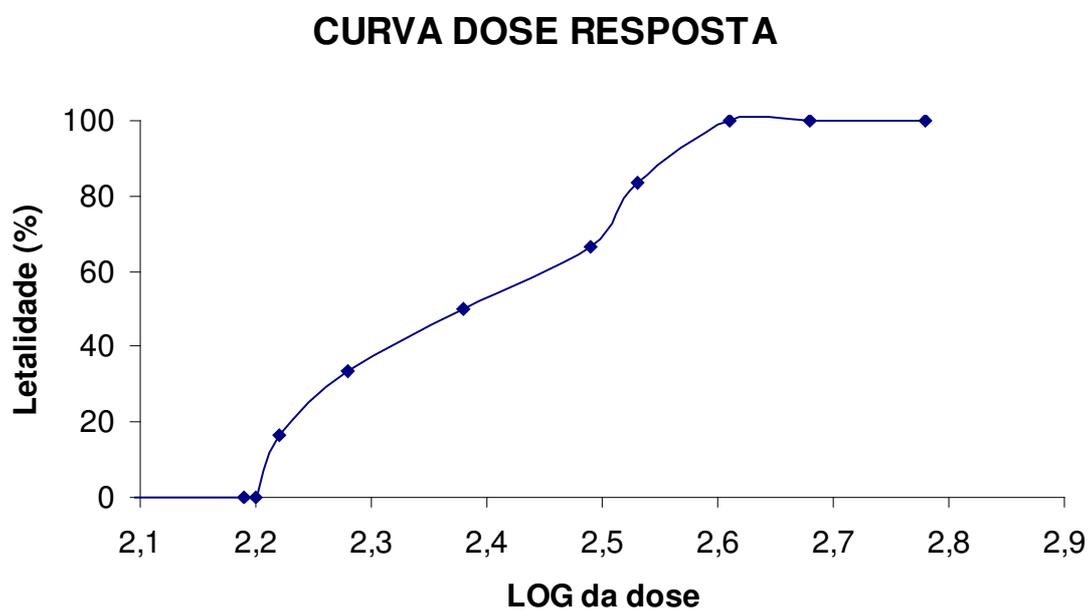


Figura 1. Curva dose-resposta da toxicidade de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr.

5. ARTIGO II

Artigo a ser submetido ao *Journal of Ethnopharmacology*

ESTUDO PRELIMINAR DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DE *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr

C. M. P. Lima^{1*}, A. R. S. Grangeiro¹, A. C. P. Silva¹, I. V. G. A. Bastos¹, R. A. G. Oliveria², I. A. Souza¹.

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-521, Recife-PE, Brasil.

²Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil.

RESUMO

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr, é uma árvore de grande porte conhecida popularmente como “babatenon”, “barbatenon”. A casca do seu caule é utilizada pela população como cicatrizante e antiinflamatório. Esse trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum*. O modelo utilizado foi o edema de pata induzida por carragenina (0,1% p/v) em ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) adultos, machos e fêmeas. Os grupos padrões receberam indometacina (10 mg/kg) e nos grupos controles administraram-se solução fisiológica 0,9%, ambos por via intraperitoneal (i.p.). Os grupos tratados receberam doses de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg (i.p.) do extrato bruto de *P. cochliocarpum*. Realizou-se a mensuração das patas edemaciadas por um período de seis horas. Os resultados demonstraram que não houve uma redução significativa dos volumes dos edemas nos animais machos, tratados com a dose de 12,87 mg/kg do extrato bruto de *P. cochliocarpum*, sugerindo assim uma possível atividade edematogênica. A dose mais representativa nos animais machos dos grupos tratados com o extrato foi de 25,75 mg/kg, obtendo uma redução significativa dos volumes dos edemas na quarta e sexta hora. Nas fêmeas, observou-se redução significativa na segunda, terceira, quinta e sexta horas com a dose de 25,75 mg/kg. As doses de 12,87 e 51,50 mg/kg reduziram significativamente os volumes dos edemas de pata a partir da terceira hora. O extrato não apresentou atividade antiinflamatória satisfatória não justificando, dessa maneira, o seu uso popular.

Unitermos: *Pithecellobium cochliocarpum*, edema de pata, antiinflamatório.

ABSTRACT

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr, is a large tree known popularly as “babatenon”, “barbatenon”. The bark of its stem is used by the population as healing and anti-inflammatory. The aim of this work was to evaluate the anti-inflammatory activity of ethanolic crude extract of the bark of *P. cochliocarpum*. Carrageenan-induced hind paw edema model was used in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) adult, male and female. The groups standards received indomethacin (10 mg/kg) and the groups controls was administered solution physiological 0.9%, both for route intraperitoneal (i.p.). The treat

groups received doses at 12,87; 25,75 and 51,50 mg/kg (i.p.) of the crude extract of *P. cochliocarpum*. Paw edema was measured during 6 horas. The results demonstrated that it did not have a significant reduction of the volumes of edemas in the male animals, treated with the dose at 12,87 of the crude extract of *P. cochliocarpum*, thus suggesting a possible edematogenic activity. The dose most representative in the male animals of the groups dealt with the extract was at 25,75 mg/kg, getting a significant reduction of the volumes of edemas in the fourth and sixth hour. In the females, significant reduction was observed in second, third, fifth and sixth hours with the dose at 12,87mg/kg. The doses at 12,87 and 51,50 mg/kg significantly reduced the volumes of edemas of paw from the third hour. The extract did not present satisfactory antiinflammatory activity not justifying, in this way, its popular use.

Key words: *Pithecellobium cochliocarpum*, hind paw edema, anti-inflammatory.

1. INTRODUÇÃO

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr, árvore de grande porte, conhecida popularmente como “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” e “barbatimam”. O fruto é uma vagem com semente em várias fileiras e suas flores são brancas amareladas ou esverdeadas. O *screening* fitoquímico dos extratos hidroalcoólicos das cascas e das folhas apresentou testes positivos para saponinas, flavonóides e taninos. A presença de alcalóides foi muito discreta. Apenas o extrato hidroalcoólico das folhas apresentou teste positivo para esteróides e triterpenos (SARMENTO, 1999).

Segundo Lima et al. (2007), *P. cochliocarpum* apresentou uma DL₅₀ de 257,49 mg/kg sendo considerada muito tóxico para administração intraperitoneal. Pereira et al. (2005) revelaram a utilização pela população da combinação de *P. cochliocarpum* com *Anacardium occidentale* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi no tratamento de doenças dermatológicas.

De acordo com Oliveira (2006) o extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* causou inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans* na concentração de 5.000 µg/mL, porém não apresentou atividade sobre bactérias Gram negativas, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*.

Trabalhos feitos por Sarmiento (1999, apud OLIVEIRA, 2006) com a partição clorofórmica do extrato hidroalcoólico e butanólica da casca de *P. cochliocarpum* resultou numa potente atividade sobre *S. aureus*.

Relatos da literatura indicam que as cascas de seu caule são utilizadas como medicinal, externamente, para o tratamento de feridas (OLIVEIRA; SILVA, 1994).

2. METODOLOGIA

2.1 Animais

Os animais utilizados foram ratos Wistar, *Rattus norvegicus*, machos e fêmeas, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Cinco grupos com seis ratos cada foram subdivididos em três grupos tratados, um controle e um padrão. Todos os animais receberam água e ração *ad libitum* e foram mantidos em condições controladas de temperatura (25 ± 2 °C) e luminosidade (ciclo 12h claro/escuro). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pernambuco (protocolo número 041.544/2006-47).

2.2 Vegetal e preparo do extrato

Amostras de *Pithecellobium cochliocarpum* foram coletadas no Jardim da Cidade Universitária, em João Pessoa-PB, com exsicata número 61.336, determinada pela botânica Dr^a Rita de Cássia A. Pereira. As cascas de *P. cochliocarpum* foram desidratadas e em seguida submetidas à maceração por percolação. Utilizou-se etanol 95% (p/p) como líquido extrator. O mesmo foi evaporado em rotavapor, fornecendo resíduo escuro e higroscópico.

2.3 Indução do edema de pata

O teste da atividade antiinflamatória foi realizado segundo o método de Winter et al., (1962, modificado). O edema foi induzido pela injeção de 0,1 mL de carragenina a 1% na região subplantar da pata direita posterior dos animais pertencentes aos grupos controle, padrão e tratados. O volume (mL) do edema induzido foi medido com auxílio de pletismômetro modificado. Antes da administração da carragenina (0⁻) e trinta minutos após

(0⁺), foram mensurados os volumes das patas. Após a administração das drogas, o volume da pata de cada animal continuou sendo mensurado com intervalos constantes de uma hora por seis horas. A diferença entre o volume das patas antes e após a aplicação da carragenina expressava o volume dos edemas.

2.4 Tratamento dos animais

Os animais foram privados de alimento por um período de 12 horas antes do início do tratamento. Os grupos controle e padrão receberam solução fisiológica 0,9% e indometacina (10 mg/kg), respectivamente. Os grupos tratados receberam doses de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* (respectivamente 5, 10 e 20% da DL₅₀ estimada por Lima et al., 2007). Todas as administrações foram feitas via intraperitoneal (i.p.).

2.5 Análise estatística

Os valores foram expressos como média ± erro padrão (e.p.m.). As diferenças entre grupos foram analisadas através da análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste “*t*” de Student. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre < 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma grande variedade de plantas medicinal é usada por algumas sociedades no mundo como instrumento terapêutico no tratamento de processos inflamatórios, e um número significativo de estudos experimentais tem contribuído para confirmar a eficácia de seus usos (BORCHERS et al., 2000; DARSHAN, DORESWAMY, 2004; SETTY, SIGAL, 2005).

A reação inflamatória em sua fase aguda é regida por uma série de modificações nos mediadores intracelulares, verificando-se aumento da liberação de citocinas, espécies oxigenadas e nitrogenadas, e eicosanóides (RAO, FANG, TZENG, 2005).

O teste do edema de pata induzido por carragenina 1% tem sido extremamente utilizado como modelo de estudo de inflamação, bem como para avaliação de substâncias

antiinflamatórias (LUCENA et al., 2006), sendo que o desenvolvimento deste edema envolve inclusive a participação de diferentes mediadores do processo inflamatório (DI ROSA, GIROLD, WILLOUGHBY, 1971).

A avaliação do extrato etanólico de *P. cochliocarpum* revelou a diminuição do edema durante a segunda fase da inflamação, sugerindo que esta diminuição está correlacionada com elevada produção de prostaglandinas, ativação da cicloxigenase-2 (COX-2) e liberação de óxido nítrico (NO) (LIMA, 1999 apud SILVA, 2005).

Em machos, o pico máximo do volume do edema, nos grupos tratados com as doses de 12,87 e 25,75 mg/kg do extrato e com indometacina (10 mg/kg), foi evidenciado na segunda hora. Os animais tratados com a dose de 51,50 mg/kg do extrato obtiveram maior volume do edema na terceira hora, diferencialmente dos animais do grupo controle, que apresentaram pico máximo somente na quarta hora.

A administração do extrato bruto etanólico de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr na dose de 12,87 mg/kg não causou redução significativa do edema nos ratos machos, possuindo um efeito edematogênico. A atividade flogística inicial também foi visualizada durante a realização da toxicidade aguda (DL₅₀) em camundongos, onde foram evidenciados edemas de focinhos nos animais tratados com o extrato (LIMA et al., 2007).

Na quarta hora houve redução significativa do edema nos grupos tratados com o extrato nas doses de 25,75 e 51,50 mg/kg (percentual inibitório de 35,33 e 25,33%, respectivamente). Na sexta hora apenas a dose de 25,75 mg/kg reduziu significativamente o edema apresentando inibição de 51,22%.

Todos os grupos tratados com o extrato bruto de *P. cochliocarpum* apresentaram uma elevação dos volumes do edema após a aplicação da carragenina quando comparados com o grupo controle (FIGURA 1).

Em fêmeas, o pico do volume dos edemas, nos grupos tratados com o extrato na dose de 12,87 mg/kg, ocorreu durante a segunda hora. No grupo controle e nas doses de 25,75 e 51,50 mg/kg do extrato, a média máxima dos volumes encontrada foi durante a terceira hora. No grupo padrão o valor máximo ocorreu no decorrer da quarta hora.

O grupo indometacina (10 mg/kg) obteve redução significativa do edema nas terceira, quinta e sexta horas, com percentuais inibitórios de 28,50; 25,42 e 15,43%, respectivamente.

O grupo tratado com o extrato na dose de 12,87 mg/kg apresentou redução significativa do edema, semelhante ao grupo padrão, nas terceira, quinta e sexta horas, com índices inibitórios de 21,26; 16,95 e 17,90%, respectivamente. A dose de 25,75 mg/kg reduziu significativamente os edemas nas segunda, terceira, quinta e sexta horas, com índices de redução de 19,23; 21,74; 33,90; 40,12%, respectivamente. O extrato na dose de 51,50 mg/kg proporcionou redução significativa a partir da terceira hora (19,32; 29,95; 24,86 e 27,78%, terceira, quarta, quinta e sexta horas, respectivamente) (FIGURA 2).

4. CONCLUSÃO

O extrato bruto etanólico da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr administrado por via intraperitoneal, não apresentou ação antiinflamatória satisfatória quando utilizado em ratos machos. Em fêmeas, porém, a redução foi mais significativa apresentando ação antiflogística marcantes nas doses de 12,87 e 51,50 mg/kg a partir da terceira hora.

Necessita-se averiguar outros protocolos experimentais antiinflamatórios e analgésicos com o intuito de comprovar a utilização popular do vegetal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORCHERS AT, KEEN CL, STERN JS, GERSHWIN ME 2000. Inflammation and native American medicine: the role of botanicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*. vol.72, p.339–347, 2000.

DARSHAN S, DORESWAMY R. Patented anti-inflammatory plant drug development from traditional medicine. *Phytotherapy Research*. vol.18, p.343–357, 2004.

DI ROSA M, GIROUD JP, WILLOUGHBY DA. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol*. vol. 104, p.15-29, 1971.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

LIMA CMP, GRANGEIRO ARS, SILVA ACP, SILVA JG, GURGEL APAD, OLIVEIRA RAG, SOUZA IA. Determinação da DL₅₀ de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. *Rev. Bras. Farmcogn.* 2007 (Em submissão).

LUCENA JEX, BISPO MD, NUNES RS, CAVALCANTI SCH, TEIXEIRA-SILVA F, MARÇAL RM, ANTONIOLLI AR. Efeito antinociceptivo e antiinflamatório do extrato aquoso da entrecasca de *Coutarea hexandra* Schum. (Rubiaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.* vol.16, n.1, p.67-72, 2006.

OLIVEIRA RAG, SILVA MSH 1994. *Plantas medicinais na atenção primária à saúde*. João Pessoa, UFPB, Série Extensão, n.1, p. 50-57.

OLIVEIRA RAG 2006. Plantas medicinais usadas tradicionalmente na dermatologia: avaliação da atividade biológica de seus extratos, óleos essenciais e de suas associações. Tese de Doutorado, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa

PEREIRA CO, LIMA EO, OLIVEIRA RAG, TOLEDO MS, AZEVEDO AKA, GUERRA MF, PEREIRA RC. Abordagem etnobotânica de plantas medicinais utilizadas em dermatologia na cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil. *Rev.Bras.Pl.Med.* Botucatu, v.7, n.3, p.9-17, 2005.

RAO YK, FANG S, TZENG Y. Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. *Journal of Ethnopharmacology.* vol.100, p.249-253, 2005.

SARMENTO DMA 1999. Isolamento e identificação de substâncias bioativas de *Pithecellobium cochliocarpum* Mart, 86p. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa.

SETTY AR, SIGAL LH. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism.* vol.34, p.773-784, 2005.

SILVA MG, OLIVEIRA FS, QUITANS – JR. LJ, OLIVEIRA TML, DINIZ MFFM. Investigação do Efeito Analgésico Central e Antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores. *Acta Farm Bonaerense.* vol.24, p.533-7, 2005.

WINTER CA, RISHLEY EA, NUSS GW. Carrageenan induced edema en hind paw as an assay for antiinflamatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol Méd.* vol. 3, p.544-547, 1962.

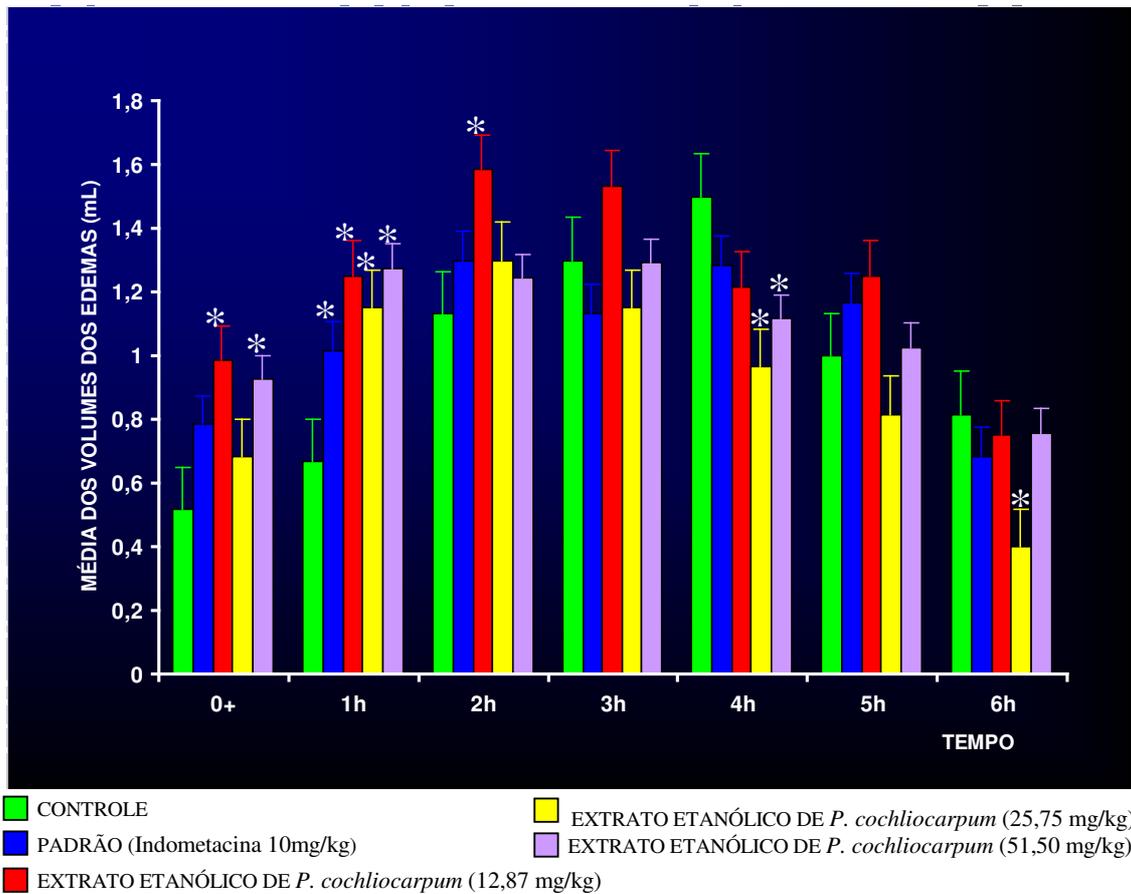


Figura 1. Efeito do extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87, 25,75 e 51,50 mg.kg⁻¹, administrados por via intraperitoneal, no modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratos Wistar adultos. Os valores representam a média ± desvio padrão. * P <0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo).

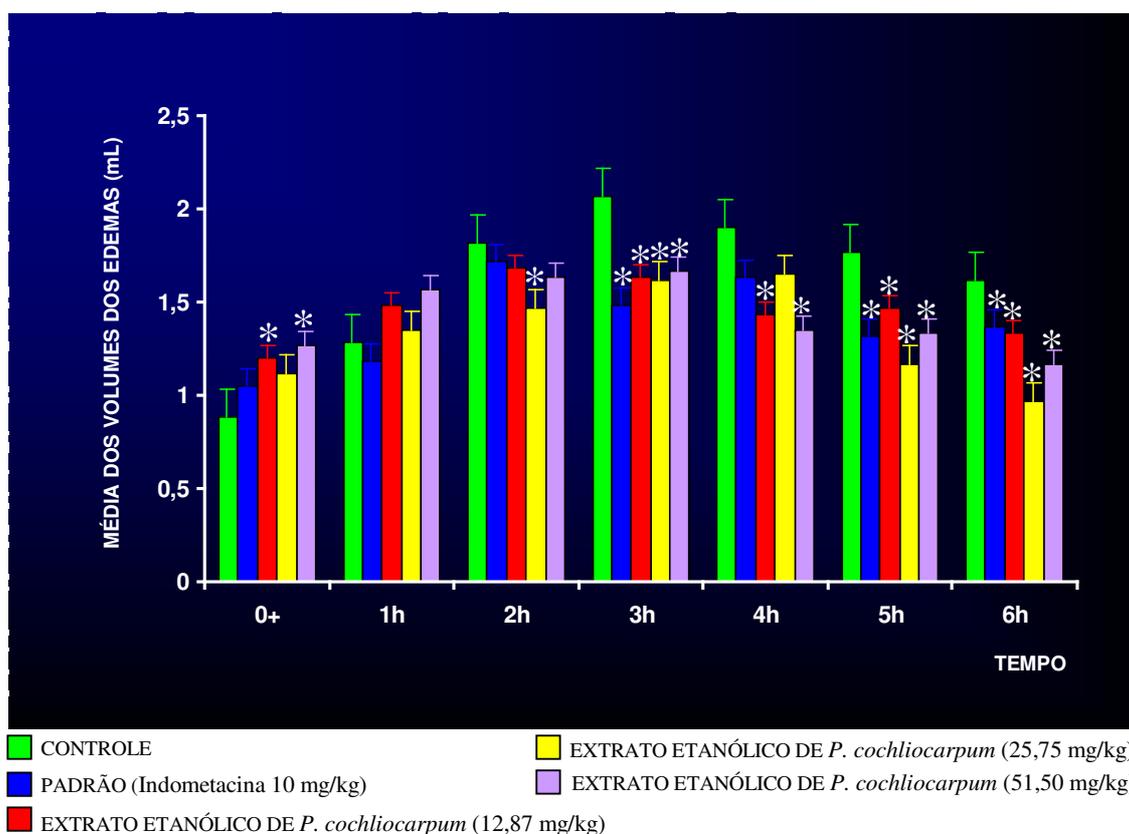


Figura 2. Efeito do extrato etanólico da casca do caule de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87, 25,75 e 51,50 mg.kg⁻¹, administrados por via intraperitoneal, no modelo de edema de pata induzido por carragenina em ratas Wistar adultas. Os valores representam a média ± desvio padrão. * P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo).

6. ARTIGO III

Artigo a ser submetido ao *Journal of Ethnopharmacology*

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTITUMORAL DE *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr FRENTE AO SARCOMA 180

C. M. P. Lima^{1*}, A. R. S. Grangeiro¹, A. C. P. Silva¹, R. A. Caribé¹, R. A. G. Oliveira²,
I. A. Souza¹.

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 50740-521, Recife-PE, Brasil.

²Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil.

RESUMO

A obtenção de produtos efetivos de origem natural tem propiciado o avanço das pesquisas científicas contra as enfermidades. Essas novas moléculas de origem natural proporcionam maior diversidade farmacológica para o tratamento dessas doenças. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr, é conhecido popularmente como “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” e “barbatimam”. As cascas de seu caule são utilizadas tradicionalmente no tratamento de feridas. Esse trabalho avaliou o efeito antitumoral do extrato bruto etanólico das casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr frente ao Sarcoma 180. Inicialmente as células tumorais foram implantadas na região axilar direta de camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas sadias. Os camundongos implantados foram divididos em cinco grupos contendo seis animais. O grupo controle recebeu solução salina 0,9% e no grupo padrão administrou-se metotrexato (10 mg/kg). Os grupos tratados receberam doses nas concentrações de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg do extrato bruto etanólico de *P. cochliocarpum*, respectivamente. Todas as administrações foram por via intraperitoneal. Após tratamento de sete dias, os animais foram sacrificados e a massa tumoral, bem como fígado, baço, coração e rins foram dissecados e fixados para análise histopatológica. Na avaliação histológica dos órgãos foi constatada pouca variação entre os grupos, enfatizando a presença de esteatose nos fígados dos animais tratados e padrão. Todos os animais tratados com o extrato apresentaram tumores sólidos e discreta vascularização. Os animais tratados com o extrato na dose de 51,50 mg/kg obtiveram índice de inibição de 39% quando comparado com o grupo controle. Nos demais animais tratados com o extrato não houve redução significativa do tumor. O extrato etanólico bruto da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr nas doses administradas não apresentou redução significativa dos tumores Sarcoma 180.

Unitermos: *Pithecellobium cochliocarpum*, antitumoral, Sarcoma 180, metotrexato.

ABSTRACT

The attainment of effective products of natural origin has propitiated the advance of the scientific research against the diseases. These new molecules provide to greater pharmacological diversity for the treatment of these illnesses. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr, is known popularly as “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” and

“barbatimam”. The barks of its stem is used traditionally in the treatment of wounds. This work evaluated the antitumoral effect of the crude extract ethanolic of barks of its stem of *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr front to Sarcoma 180. Initially the cells tumor had been implanted in the axillary region right of albino mice Swiss (*Mus musculus*), female healthy. The implanted mice were divided in five groups containing six animals. The control group received solution saline 0.9% and in the standard group methotrexate was administered (10 mg/kg). The treat groups received doses in the concentrations from 12,87; 25,75 and 51,50 mg/kg of the ethanolic crude extract of *P. cochliocarpum*, respectively. All the administrations were for route intraperitoneal. After treatment of seven days, the animals were sacrificed and the tumoral mass, as well as liver, spleen, heart and kidneys were dissected and fixed for histopathological analysis. In the histological evaluation of the organs little variation between the groups was evidenced, emphasizing the presence of steatosis in livers of the treated animals and the standard. All the animals treated with the extract presented solid tumors and discrete vascularization. The animals treated with the extract in the dose of 51,50 mg/kg had gotten index of 39% inhibition when compared with the controul group. In the others animal treated with the extract it did not have significant reduction of the tumor. The crude ethanolic extract of the barks of stem of *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr in the cited doses did not present significant reduction of the tumors Sarcoma 180.

Key words: *Pithecellobium cochliocarpum*, antitumor activity, Sarcoma 180, methotrexate.

1. INTRODUÇÃO

Pithecellobium cochliocarpum (Gomez) Macbr, pertencente à família das Leguminosae-Mimosoideae, é conhecido popularmente como “babatenon”, “barbatenon”, “barbatimão” e “barbatimam”. O fruto é uma vagem com semente em várias fileiras. Suas flores são brancas amareladas ou esverdeadas e a semente é bicolor. O *screening* fitoquímico dos extratos hidroalcoólicos do caule e das folhas confirmaram a presença de saponinas, taninos e flavonóides (SARMENTO, 1999). As cascas do caule são utilizadas como medicinal, externamente, para o tratamento de feridas (OLIVEIRA; SILVA, 1994).

As neoplasias são a segunda causa mais freqüente de mortalidade em humanos (SATO et al., 2005). Avanços relacionados à prevenção e tratamento do câncer requerem o desenvolvimento continuado de novos agentes quimiopreventivos e quimioterapêuticos (REDDY; ODHAV; BHOOLA, 2003).

Um dos indícios mais importantes do renascimento de fármacos de origem natural está no campo dos anti-cancerígenos, onde se destacam os alcalóides da vinca, taxol, podofilotoxina e a camptotecina (KINGHORN; BALADRIN, 1993; KINNGHORN; SEO

1996; DE SMETT; 1997; DAVID; NASCIMENTO; DAVID, 2004). A utilização dos vegetais como recurso terapêutico e a busca de novos quimioterápicos naturais, que tenham atividade antitumoral e um mínimo efeito colateral, tem sido de fundamental importância para a terapia contra o câncer. Grande parte dos agentes antitumorais utilizados na prática clínica são oriundos de produtos naturais ou até mesmo de seus derivados (NEWMAN et al. 2003).

O presente trabalho visou analisar o efeito antitumoral de *P. cochliocarpum* frente ao Sarcoma 180 com avaliação histopatológica de órgãos (fígado, baço, rins e coração) e tumores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material botânico

A espécie arbórea *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr foi coletada, no Jardim da Cidade Universitária, em João Pessoa-PB no dia 06 de outubro de 2005, durante a manhã. A identificação da espécie foi determinada pela botânica Dr^a Rita de Cássia A. Pereira, no Herbário IPA – Dárdano de Andrade Lima em Pernambuco (Exsicata IPA N^o 61.336).

2.2 Obtenção do extrato

O extrato de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr foi fornecido pelo Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba. As cascas de *P. cochliocarpum* foram desidratadas em estufa com ar circulante a 38 °C, por 72 horas e trituradas em moinho tipo Harley. Em seguida foram submetidas à maceração por percolação, até obter uma coloração clara. Utilizou-se etanol 95% (p/p) como líquido extrator. O mesmo foi evaporado em rotavapor, fornecendo resíduo escuro e higroscópico.

2.3 Animais

Os animais utilizados foram camundongos adultos albinos Swiss (*Mus musculus*), fêmeas, com pesos entre 25-35g, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os mesmos receberam água e ração *ad libitum* e foram mantidos em gaiolas de polipropileno com ciclo 12 h claro/escuro e temperatura $23 \pm 2^\circ\text{C}$. O manuseio dos animais durante o experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE (protocolo número 041.544/2006-47).

Foram utilizados seis animais por grupo devidamente identificados. No grupo padrão por via intraperitoneal (i.p.), utilizou-se metotrexato (10 mg/kg), enquanto o grupo controle recebeu solução salina 0,9%. Os grupos tratados receberam administração, também via i.p., do extrato bruto etanólico de *P. cochliocarpum* nas doses de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg.

2.4 Transplante dos tumores e tratamento

No experimento realizado foram utilizadas células tumorais da linhagem Sarcoma 180 (forma sólida). Os fragmentos tumorais inicialmente foram retirados de animais doadores e implantados fragmentos com cerca de 3 mm de diâmetro na região axilar direita dos animais receptores (STOCK et al. 1955). Após 48h do transplante dos tumores iniciou-se o tratamento de cada grupo respectivo, por um período de sete dias.

2.5 Avaliação da atividade antitumoral e análise histopatológica

Após 24h do término do tratamento, todos os animais foram sacrificados, e os tumores foram avaliados macroscopicamente, dissecados, pesados e fixados com Carnoy de imediato. Os fígados, baços, rins e corações dos animais de cada grupo também foram avaliados na macroscopia, e fixados para processamento histopatológico (DAGLI, 1989).

2.6 Análise estatística

Os valores foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m). As diferenças entre os grupos foram avaliadas através da análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste “*t*” de Student. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

As médias dos tumores Sarcoma 180 dos grupos controle, padrão (Metotrexato 10 mg/kg) e os tratados com o extrato bruto etanólico de *P. cochliocarpum* (Gomez) Macbr nas doses de 12,87; 25,75 e 51,50 mg/kg estão representadas na Figura 1.

Macroscopicamente, os animais do grupo controle apresentaram hipertrofia do baço e fibrose hepática. Nos animais tratados com o extrato visualizou-se alterações como hipertrofia de fígados e baços, e modificação na coloração dos rins, à medida que se aumentou a dose administrada nos animais tratados com o extrato bruto etanólico de *P. cochliocarpum* (Gomez) Macbr. Na macroscopia dos animais tratados com metotrexato (10 mg/kg, i.p.), todos os órgãos apresentaram atrofia. Os rins demonstraram aspecto hemorrágico.

Os tumores se apresentaram bem delimitados e com consistência sólida em todos os animais tratados. É importante salientar que alguns animais tratados com metotrexato apresentaram uma redução tumoral bastante expressiva.

Os dados histológicos revelaram a presença de células inflamatórias nos corações e rins dos animais tratados com metotrexato, bem como visualização de vasos renais congestos (figura 2). Os grupos controle e tratados com o extrato também apresentaram essas alterações.

No coração dos animais tratados com metotrexato não foi constatada a presença de células neoplásicas. A análise dos tumores revelou a presença de extensa necrose, fibrose, invasão do tecido muscular esquelético e tecido adiposo (figura 3). O baço apresentou células atípicas multinucleadas (figura 4) e infiltração neoplásica (figuras 4 A/B). Os animais dos grupos controle e tratados com o extrato também apresentaram as mesmas características histológicas nos tumores e baços.

Nos animais do grupo controle foram visualizadas, microscopicamente, grande presença de infiltrado inflamatório em todos os órgãos analisados e embolia neoplásica nos rins.

Na microscopia dos animais tratados com o extrato etanólico de *P. cochliocarpum* observou-se uma pericardite e embolia neoplásica no coração. Em todos os órgãos analisados, a presença de células neoplásicas diminuiu à medida que se aumentou a dose, no entanto, a presença de infiltrado inflamatório foi intensificada. Ocorreu esteatose hepática nos grupos tratados com o extrato nas doses de 25,75 (figuras 5 C/D) e 51,50 mg/kg. No fígado dos animais tratados com o extrato na dose de 25,75 mg/kg ainda foi verificada a presença de células atípicas em seu parênquima (figura 5F). O aumento da dose foi inversamente proporcional a neoformação vascular e fibroplasia nos tumores. Verificou-se a diminuição da vascularização em torno do tumor com o aumento das doses do extrato.

Todos os animais tratados com metotrexato apresentaram intensa diarreia, grande perda de peso corporal e palidez. Os animais tratados com o extrato apresentaram intensa taquicardia, piloereção e diminuição da excreção fecal.

4. DISCUSSÃO

A inibição do câncer através de uma variedade de fitoconstituintes foi confirmada em diferentes modelos de experimentação animal e, a partir disso, vêm sendo elaboradas estratégias de prevenção (SINGLETERY, 2000).

A literatura também indica que muitos produtos naturais são utilizados popularmente como agentes quimioprotetores contra alguns tipos de câncer (REDDY; ODHAV; BHOOLA, 2003). Antioxidantes químicos como os polifenóis encontrados em chás verdes e vegetais têm o potencial de absorver elétrons livres, e conseqüentemente eliminar radicais livres (STEELE et al., 2000).

Os animais tratados com o extrato etanólico da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr nas doses de 12,87 e 25,75 mg/kg não apresentaram redução do tumor quando se comparou com o grupo controle. Houve um aumento não significativo nos pesos dos tumores dos animais tratados com 12,75 e 25,75 mg/kg do extrato quando comparados com os pesos dos tumores do grupo controle. O grupo que recebeu 51,50 mg/kg do extrato apresentou uma redução não significativa de 39% no peso

dos tumores. A maior dose administrada do extrato, portanto, embora não significativo, foi capaz de reduzir o Sarcoma 180 enquanto que as menores doses não possuíram efeito inibitório. O metotrexato reduziu em 89,02% em média os pesos dos tumores nos animais do grupo padrão.

Oliveira (2006), verificou uma redução de 81,01 % dos pesos dos tumores nos animais tratados com o extrato bruto etanólico de *P. cochliocarpum* na dose de 60 mg/kg.

A inibição do crescimento de um novo vaso sanguíneo pode prevenir o crescimento ou progressão do tumor benigno. O crescimento de novos vasos sanguíneos é necessário para a nutrição das células que estão se multiplicando. Deste modo, a interrupção do tumor associado com a inibição da angiogênese poderia inibir o crescimento do tumor com baixa toxicidade sistêmica e impedir a resistência das células tumorais às drogas antineoplásicas (STEELE; KELLOFF, 2005).

Os efeitos adversos encontrados nos animais tratados com o extrato foram se intensificando com o aumento das doses. Como a maioria dos agentes antitumorais necessita de seletividade, uma alta dose desses agentes é necessário para se atingir um efeito terapêutico. Entretanto, essas doses altas podem causar efeitos tóxicos ao paciente (ISHIKI; ONISHI; MACHIDA, 2004).

Os resultados da microscopia dos tumores e fígados confirmam os dados encontrados pelas literaturas citadas anteriormente, demonstrando uma diminuição da vascularização em torno do tumor e presença de esteatose hepática, como resultado da toxicidade nos animais tratados com o extrato nas doses mais altas.

A presença de extensa necrose nos tumores de todos os animais tratados confirma os resultados obtidos por Carneiro-Leão (1997), Zuckerberg (1972), que relataram extensas áreas de necrose em tumores transplantados, via subcutânea, em especial para o Sarcoma 180. Em pesquisas com essa mesma linhagem tumoral, Sato et al. (2005) observaram que uma larga área na porção central do tumor apresentava necrose com alguns focos de calcificação.

Os infiltrados inflamatórios, ora linfocitários, ora mistos, nos órgãos analisados microscopicamente, estão de acordo com Sato et al. (2005) que evidenciaram que o fator de estimulação de colônias (CSF) produzido pelas células tumorais no Sarcoma 180, aumenta

o número de células polimorfonucleares (PNM) na circulação periférica. A granulopoiese também tem sido encontrada.

Assef et al. (2002) relatam que a ação antitumoral dos produtos naturais pode envolver mecanismos imunomodulatórios ou ter uma ação citotóxica.

Os efeitos adversos encontrados nos animais tratados com metotrexato estão de acordo com Rang et al. (2004) e Silva (2002), que relatam a ocorrência de diarreia, e depressão no sistema gastrointestinal levando a grande perda de peso corporal.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato etanólico bruto da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr nas doses administradas não apresentou redução significativa dos tumores Sarcoma 180. A análise histológica observada nos tumores está de acordo com os dados encontrados em trabalhos anteriores. Sugere-se, no entanto, um estudo mais detalhado com concentrações maiores do extrato, bem como a utilização de outras linhagens tumorais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSEF MLM, CARNEIRO-LEÃO AN, MORETÃO MP, AZAMBUJA AN, IACOMINI M, BUCHI DF. Histological and immunohistochemical evaluation of sarcoma 180 in mice after treatment with an α -d-glucan from the lichen *Ramalina celastri*. *Braz. J. morphol. Sci.* vol.19, n.2, p.49-54, 2002.

CARNEIRO-LEÃO A. M. Atividade antitumoral dos polissacarídeos nativos e quimicamente modificados do líquen *Ramalina celastri*, 145p. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

DAGLI MLZ. *Disseminação Linfática do Tumor de Ehrlich: Estudo Experimental*. (Dissertação de Mestrado-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) USP. São Paulo. 148 p.,1989.

DAVID JPL, NASCIMENTO JAP, DAVID JM. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. *Infarma*. vol.16, n.9-10, p.71-76, 2004.

DE SMETT PAGM. The role of plant-derived drugs and herbal medicines in healthcare. *Drugs*. vol.54, p.801-840, 1997.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

ISHIKI N, ONISHI H, MACHIDA Y. Evaluation of antitumor and toxic side effects of mitomycin C–estradiol conjugates. *International Journal of Pharmaceutics*. vol.279, p.81–93, 2004.

KINGHORN AD, BALANDRIN M. Human medicinal agents from plants. Washington: *American Chemical Society*. p.356, 1993.

KINGHORN AD, SEO EK. Plants as sources of drugs. In: FULLER G, MCKEON TA, BILLS DD. Agricultural materials as renewable resources: Nonfood and industrial applications. Washington: *American Chemical Society*. p.179-193, 1996.

OLIVEIRA RAG, SILVA MSH. *Plantas medicinais na atenção primária à saúde*. João Pessoa, UFPB, Série Extensão, n.1, p. 50-57, 1994 .

OLIVEIRA RAG. Plantas medicinais usadas tradicionalmente na dermatologia: avaliação da atividade biológica de seus extratos, óleos essenciais e de suas associações. Tese de Doutorado, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2006.

RANG HP, DALE MM, RITTER JM, MOORE PK. *Farmacologia*. Ed. Elsevier. Rio de Janeiro - RJ. Quinta edição, 2004.

REDDY L, ODHAV B, BHOOLA KD. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacol & Therap*. vol.99, p.1-13, 2003.

SARMENTO DMA. Isolamento e identificação de substâncias bioativas de *Pithecellobium cochliocarpum* Mart, 86p. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 1999.

SATO DYU, WAL R, OLIVEIRA CC, CATTANEO RII, MALVEZZI M, GABARDO J, BUCHI DF. Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180- bearing mice treated with a complex homeopathic medication. *Homeopathy*. vol.94, p.25-32, 2005.

SILVA P. *Farmacologia*. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. Sexta edição, 2002.

SINGLETARY, K. Diet, natural products and cancer chemoprevention. *The J of Nutrition*. p.465-6, 2000.

STEELE VE, KELLOFF GJ, BALENTINE D, BOONE CW, MEHTA R, BAGHERI D, SIGMAN CC, ZHU S, SHARMA S. Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea, and selected polyphenol extracts measured by in vitro bioassays. *Carcinogenesis*. vol. 21, p.63–67, 2000.

STEELE VE, KELLOFF GJ. Development of cancer chemopreventive drugs based on mechanistic approaches. *Mutation Research*. vol.591, p.16–23, 2005.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

STOCK CC, CLARCK DA, PHILIPS FS, BARCLAY RK. Sarcoma - 80 Inhibiton screening data. *Cancer Res.* vol.2, p.2-3, 1955.

ZUCKERBERG C. Estrutura e histoquímica Del Sarcoma 180, 55p. Tese (Doutorado). Universidade de Buenos Aires, 1972.

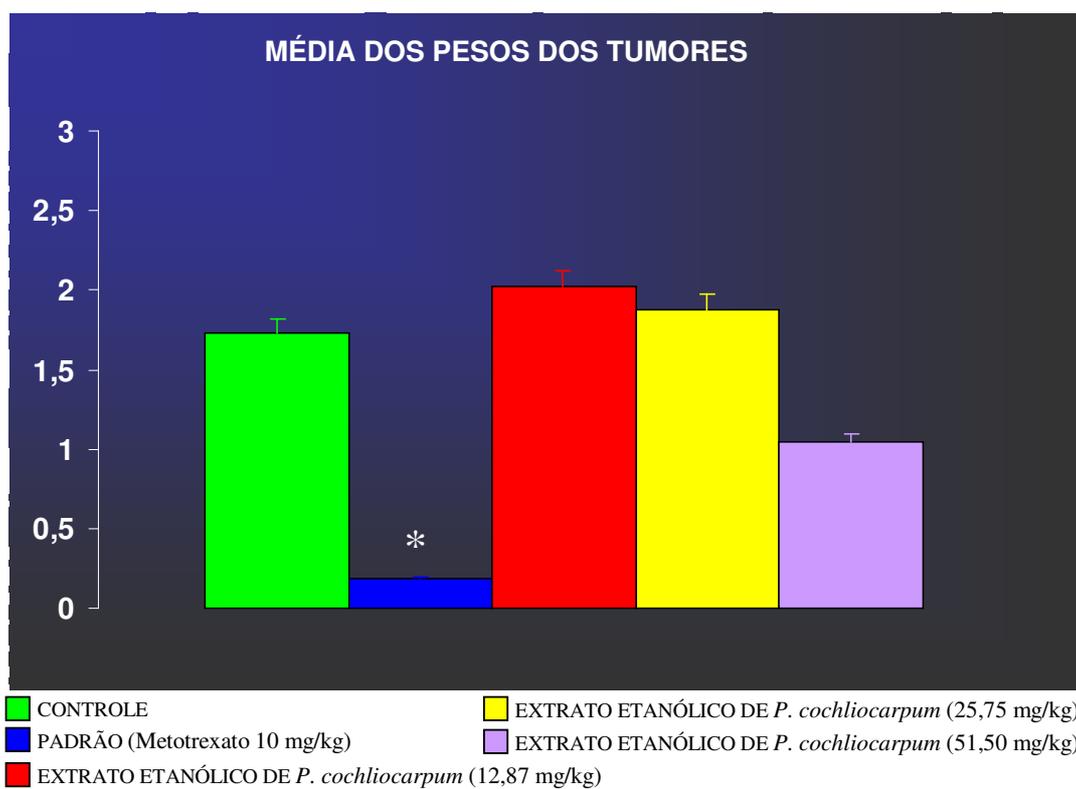


Figura 1. Média dos pesos dos tumores. *P < 0,05 comparado os grupos tratados com o controle que recebeu apenas solução salina a 0,9%. Teste “t” de Student (n = 6/grupo).

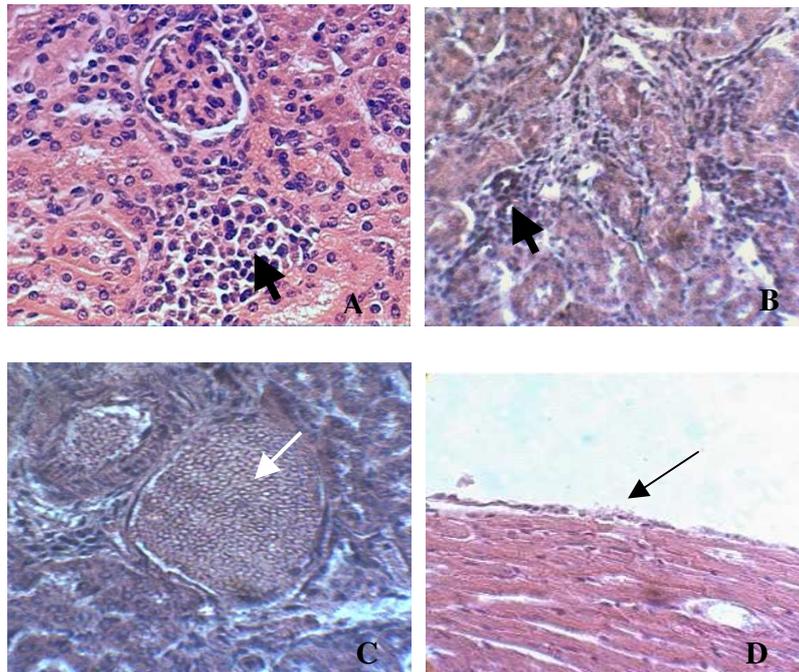


Figura 2. Aspectos histológicos do rim e coração dos animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com Metotrexato (10 mg/kg), coloração H.E. (M.O.). Em A e B, visualização de infiltrado inflamatório (setas largas). Em C, presença de vascularização congesta no rim (seta branca). Em D, visualização de infiltrado inflamatório no pericárdio (seta fina). A, B e C aumento de 400x, D aumento de 100x.

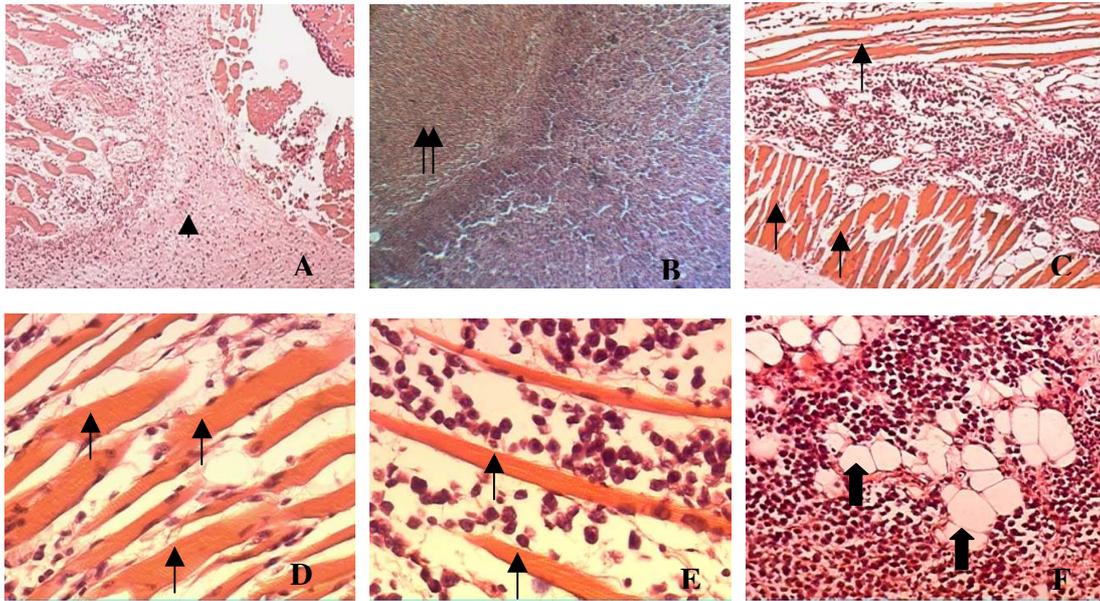


Figura 3. Aspecto histológico do Sarcoma 180 nos animais tratados com Metotrexato (10 mg/kg), coloração H.E (M.O.). Em A, observa-se a presença de extensa necrose (ponta da seta). Em B, presença de fibrose (seta dupla). C, D e E demonstram infiltração de tecido muscular estriado esquelético (setas). Em F, infiltração adipocitária (setas largas). A, B e C, aumentos de 100x, D, E e F, aumentos de 400x.

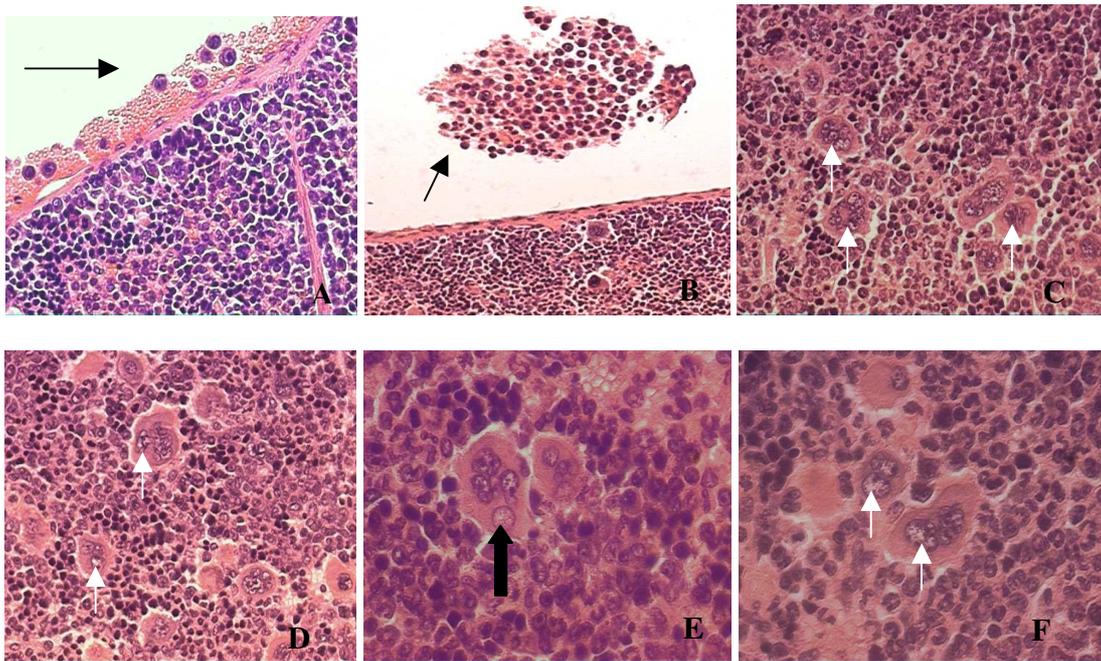


Figura 4. Aspecto histopatológico do baço dos animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com Metotrexato (10 mg/kg). Coloração H.E. (M.O.), aumentos de 100x (B), 200x (A) e 400x (C, D, E e F). Em A e B, infiltração de células neoplásicas (setas). Em C, D e F visualiza-se células atípicas multinucleadas. A figura E demonstra a presença de um vacúolo (seta larga).

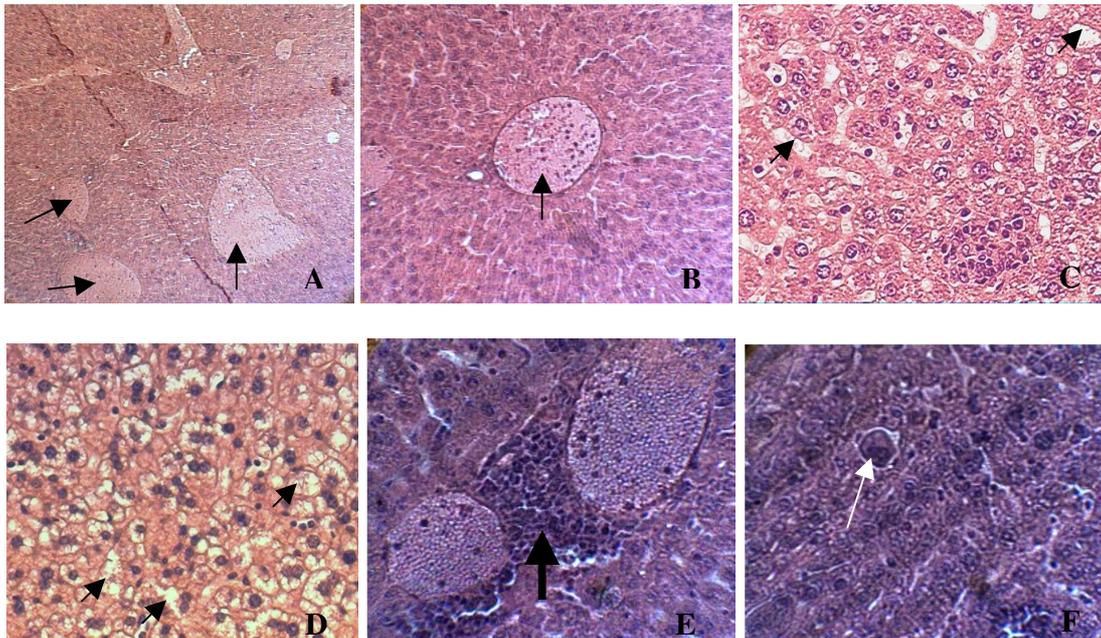


Figura 5. Aspecto histológico do fígado de animais implantados com Sarcoma 180 e tratados com extrato de *P. cochliocarpum* (25,75 mg/kg). As figuras A e B demonstram a presença de vasos congestionados (setas). Em C e D observa-se o aparecimento esteatose (ponta das setas). Em E visualiza-se o infiltrado perivascular (seta larga). Em F, observa-se a presença de uma célula atípica (seta branca). Coloração H.E. (M.O.). A, aumento de 100x; B e C, aumentos de 200x; D, E e F, aumentos de 400x.

7. CONCLUSÕES

7. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que o extrato bruto etanólico da casca do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr apresentou inicialmente efeitos estimulantes do Sistema Nervoso Central como taquicardia, taquipnéia, movimentos circulares, tremores finos e grosseiros, entre outros. Após trinta minutos de observação foram vistos efeitos menos pronunciados como alteração de marcha, apnéia e prostração que caracterizam um quadro de leve depressão. A dose letal (DL₅₀) foi estimada em 257,49 mg/kg, sendo considerada como muito tóxico (grau 4 de toxicidade) na administração pela via intraperitoneal.

Na atividade antiinflamatória, o extrato administrado por via intraperitoneal, não apresentou ação satisfatória em ratos machos. Em fêmeas houve uma ação mais significativa a partir da terceira hora nas doses de 12,87 e 51,50 mg/kg.

Frente ao Sarcoma 180 o extrato não apresentou redução significativa.

Conclui-se que, embora sejam largamente utilizadas pela população, as cascas do caule de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr não apresentaram atividades satisfatórias que justifiquem seu uso popular.

Sugere-se outros protocolos experimentais com extratos de polaridades diversas, bem como a colheita da espécie em diferentes regiões para verificação de outras atividades farmacológicas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AERTS, T.J; BARRY, T.N; MCNABB, W.C. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.75, p.1-12, 1999.

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAF, F. M.; ROBERTS, K.; WATSON, J.D. *Biologia molecular da célula*. Terceira edição, 1997.

ALICE, B.C. *Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacológico*. Canoas: editora da ULBRA, 1995.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.V.; CARVALHO, J.C.T.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *Journal of Ethnopharmacology*. vol.109, p.464-471, 2007.

ASSEF, M.L.M.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.; MORETÃO, M.P.; AZAMBUJA, A.P.; IACOMINI, M.; BUCHI, D.F. Histological and immunohistochemical evaluation of Sarcoma 180 in mice after treatment with an α -D-Glucagon from the lichen *Ramalina celastri*. *Braz. J. morphol. Sci.* vol. 19, n.2, p.49-54, 2002

BARACAT, F.F.; JUNIOR, H.J.F.; SILVA, M.J. *Cancerologia atual. Um enfoque multidisciplinar*. São Paulo, Ed. Roca, 2000.

BARBOUR, E.K; AL SHARIFA, M.; SAGHERIANA, V.K.; HABREA, A.N.; TALHOUK, R.S.; TALHOUK, S.N. Screening of selected indigenous plants of Lebanon for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 93: 1-7, 2004.

BARROS, S.B.; DAVINO, S.C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S. (Editor.) *Fundamentos da toxicologia*, 2 ed., São Paulo: Atheneu Editora, p.59-63, 2003.

BAUSTISTA-BAÑOS, S.; GARCIA-DOMINGUEZA, E.; BARRERA-NECHA, L.L.; REYES-CHILPAB, R.; WILSON, C.L. Seasonal evaluation of the postharvest fungicidal activity of powders and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinera*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Tchnology*. V.29, n.1, p.81-92, 2003.

BENT, S.; KO, R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. *The American Journal of Medicine* 116, 478–485, 2004.

BERTOLLO, C.M. *Avaliação da atividade da riboflavina em diferentes modelos de nocicepção e inflamação*. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2006.

BOELSTERLI, U.A. Animal models of human disease in drug safety assessment. *J. Toxicol. Sci.*, v.28, n.3, p.109-121, 2003.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

BORCHERS, A.T.; KEEN, C.L.; STERN, J.S.; GERSHWIN, M.E. Inflammation and native American medicine: the role of botanicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*. vol.72, p.339–347, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Brasília-DF, 60p, 2006.

BUCCHI, D.F. *Efeitos do medicamento homeopático método Canova em camundongos normais e portadores de tumor sarcoma* 180. Dissertação (Compilação de duas teses de mestrado). Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná. Curitiba/PR. 2002.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J med Biol Res*, 33: 179-189. 2000.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Ciência e Cultura*, v.55, n.3, 37-39, 2003.

CARNEIRO-LEÃO, A.M. Atividade antitumoral dos polissacarídeos nativos e quimicamente modificados do líquen *Ramalina celatris*, 145p. Tese (Doutorado em Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quim. Nova*, 21(1). 1998.

CONTROLE DO CÂNCER. *Ministério da Saúde*, Rio de Janeiro, 158p., 1990.

CORDELL, G.A. Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry*, v.40, n.6, p.1585-1612, 1995.

CRESTANI, S.C.; FREITAS, C.S.; BAGGIO, C.H.; MARQUES, M.C.A. Levantamento do uso de plantas medicinais pela comunidade do bairro Novo Mundo, Curitiba, PR, no ano de 2004. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, vol.3, n.4, p. 142-148, 2005.

DAGLI, M.L.Z. *Disseminação Linfática do Tumor de Ehrlich: Estudo Experimental*. (Dissertação de Mestrado-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) USP. São Paulo. 148 p., 1989.

DARSHAN, S.; DORESWAMY, R. Patented anti-inflammatory plant drug development from traditional medicine. *Phytotherapy Research*. vol.18, p.343–357, 2004.

DAVID, J.P.L.; NASCIMENTO, J.A.P.; DAVID, J.M. Produtos fitoterápicos: uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. *Infarma*. Vol.16, n.9-10, p.71-76, 2004.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

DE MELLO, J.C.P.; PETEREIT, F.; NSHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry*. v.41, p. 807-813, 1996.

DE PAIVA, S.R.; FIGUEIREDO, M.R.; KAPLAN, M.A.C. Estudo fitoquímico de *Plumbago auriculata* LAM. *Rev. Fitos*, vol.1, n.2, nov/2005.

DE SMETT, P.A.G.M. The role of plant-derived drugs and herbal medicines in healthcare. *Drugs*. vol.54, p.801-840, 1997.

DIMECH, G.S. Avaliação toxicológica pré-clínica do extrato bruto da *Mentha crispata*. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Pré-Clinica de Compostos Bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2003.

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol*. vol. 104, p.15-29, 1971.

DI STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo, Ed. UNESP, p.27- 100, 1996.

ELIAS, M.C.; ALVES, E. Non-conventional medicine: prevalence in oncologic patients. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2002, 48(4): 523-532.

ELISABETSKY, E. *Etnofarmacologia de algumas tribos brasileiras*. In: Ribeiro D, editor. *Suma etnológica brasileira*. Petrópolis: Vozes, 1997.

ERNEST, E. *Medicina Complementar: uma avaliação objetiva*. São Paulo: Ed. Manole, 153p., 2001.

GESLER, W.M. Therapeutic landscapes: medical issues in light of the new cultural geography. *Social Science and Medicine* 34, 735–746, 1992.

GRIN. *Germplasm Resources Information Network*. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Internet, 2005. Disponível em: http://www.ars-grin.gov/npgs/sbml/jhw/public_html/cgi-bin/family.pl?440. Acesso em: 03.Out.2005.

ISHIKI, N.; ONISHI, H.; MACHIDA, Y. Evaluation of antitumor and toxic side effects of mitomycin C–estradiol conjugates. *International Journal of Pharmaceutics*. vol.279, p.81–93, 2004.

ISSELBACHER, K.J.; BRAUNWALD, E.; WILSON, J.D. *Medicina interna*. 13^o ed. México: Nueva Editorial Interamericana, vol.1. p.391-409, 1995.

KARBER, G.; BEHRENS, B. *Estatistical Methods in Biological Assays*. London: Ed. Griffin Ch. And C. 1964.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

KAWAKUBO, Y.; KONIYAMA, K.; UMEZAWA, I.; NISHIYAMA, Y. Histopathological studies on antitumor effect of sporamycin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. v.5, p.113-118, 1980.

KINGHORN, A.D.; BALANDRIN, M. Human medicinal agents from plants. Washington: *American Chemical Society*. p.356, 1993.

KINGHORN, A.D.; SEO, E.K. Plants as sources of drugs. In: FULLER G, MCKEON TA, BILLS DD. Agricultural materials as renewable resources: Nonfood and industrial applications. Washington: *American Chemical Society*. p.179-193, 1996.

LAPA, J.A.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R.O.; LIMA, T.C.M. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.; editores. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, p. 181-96, 2000.

LIMA, C.M.P.; GRANGEIRO, A.R.S.; SILVA, A.C.P.; SILVA, J.G.; GURGEL, A.P.A.D.; OLIVEIRA, R.A.G.; SOUZA, I.A. Determinação da DL₅₀ de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. *Rev. Bras. Farmacogn.* 2007 (Em submissão).

LOPES, S.G. Fundamentos da Toxicologia Clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 158p., 2006.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA-JÚNIOR, V.F. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, 25:3. 2002.

LUCENA, J.E.X.; BISPO, M.D.; NUNES, R.S.; CAVALCANTI, S.C.H.; TEIXEIRA-SILVA, F.; MARÇAL, R.M.; ANTONIOLLI, A.R. Efeito antinociceptivo e antiinflamatório do extrato aquoso da entrecasca de *Coutarea hexandra* Schum. (Rubiaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.* vol.16, n.1, p.67-72, 2006.

MARIZ, S.R.; CERQUEIRA, G.S.; ARAÚJO, W.C.; DUARTE, J.C.; MELO, A.F.M.; SANTOS, H.B.; OLIVEIRA, K.; MELO DINIZ, M.F.F.; MEDEIROS, I.A. Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. em ratos. *Rev. Bras. Farmacogn.* 16(3):jul/set. 2006.

MELO, D.S.; CORRÊA, A.D.; MARCOS, F.C.A.; SOUSA, R.V.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico sanguíneo e o peso do fígado de ratos. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 2, p. 420-428, 2007.

MILLAN, M.J. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.* v.57, p.355-474, 2002.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; ARAÚJO, E.L.; AMORIM, E.L.C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quim. Nova*, Vol. 28, No. 5, 892-896, 2005.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

MONTHANA, R.A.A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *J Ethnopharmacol* 96: 177-181, 2005.

MORTON, D.M. Importance of species selection in drugtoxicity testing. *Toxicol. Lett.* v.102-103, p.545-550, 1998.

MULLER, A.C.; MACEDO, M.F. Patentes de fitomedicamentos: como garantir o compartilhamento dos benefícios de P&D e do uso sustentável de recursos genéticos. *Rev. Fitos.* vol.1,n.2, nov/2005.

OLIVEIRA, R.A.G.; SILVA, M.S.H. *Plantas medicinais na atenção primária à saúde.* João Pessoa, UFPB, Série Extensão, n.1, p. 50-57, 1994.

OLIVEIRA, R.A.G. Plantas medicinais usadas tradicionalmente na dermatologia: avaliação da atividade biológica de seus extratos, óleos essenciais e de suas associações. Tese de Doutorado, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 2006.

PEREIRA, C.O.; LIMA, E.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; TOLEDO, M.S.; AZEVEDO, A.K.A.; GUERRA, M.F.; PEREIRA, R.C. Abordagem etnobotânica de plantas medicinais utilizadas em dermatologia na cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil. *Rev.Bras.Pl.Med.* Botucatu, v.7, n.3, p.9-17, 2005.

PINTO, L.G.Q.; PEZZATO, L.E.; MIRANDA, E.C.; et al. Desempenho do piauçu (*Leporinus macrocephalus*) arraçoado com dietas contendo diferentes teores de tanino. *Rev. Bras. Zootec.* v.30, n.4, p.1164-1171. ISSN 1516-3598. 2001.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. *Farmacologia.* Ed. Elsevier. Rio de Janeiro - RJ. Quinta edição, 2004.

RAO, Y.K.; FANG, S.; TZENG, Y. Anti-inflammatory activities of flavonoids isolated from *Caesalpinia pulcherrima*. *Journal of Ethnopharmacology.* vol.100, p.249-253, 2005.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. *Toxicon.* v.39, p.603-13, 2001.

REBECCA, M.A.; et al. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology* 83, 101-104, 2002.

REDDY, L.; ODHAV, B.; BHOOLA, K.D. Natural products for cancer prevention: a global perspective. *Pharmacol & Therap.* vol.99, p.1-13, 2003.

REIS, M.S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In Simões CMM, Schenkel EP, Gosmann g, Meelo JCP, Mentz LA, Petovick PR, editores. *Farmacognosia: da planta ao medicamento.* 2 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. Da UFSC; p. 45-74, 2000.

RODRIGUES, O.G. Estudo *in vitro* para avaliação das alterações morfológicas das células Hep2, NCIH-292 e TVT canino produzidas por imunoparvum e *in vivo* para verificação dos seus efeitos terapêuticos. 127p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife. 2001.

SAFAIHY, H.; SAILER, E.R. Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Medica*. vol.63, p.487–493, 1997.

SATO, D.Y.O.; WAL, R.; OLIVEIRA, C.C.; CATTANEO, R.I.I.; MALVEZZI, M.; GABARDO, J.; BUCHI, D.F. Histopathological and immunophenotyping studies on normal and sarcoma 180- bearing mice treated with a complex homeopathic medication. *Homeopathy*. vol.94, p.25-32, 2005.

SANTOS, C.A.M.; TORRES, K.R.; LEONART, R. Plantas Mediciniais. *Scientia et Labor*, Curitiba. 1987.

SARMENTO, D.M.A. Isolamento e identificação de substâncias bioativas de *Pithecellobium cochliocarpum* Mart, 86p. Dissertação de Mestrado, Centro de Ciências Exatas da Natureza, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa. 1999.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES CMO, et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, cap. 15, p. 371-400, 2003.

SCHUARTSMAN, S. Produtos químicos de uso domiciliar – segurança e riscos toxicológicos. São Paulo: Almed, 92 p., 1980.

SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V.E. Medicinal plants, phytomedicines, and phytotherapy. In: *Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine*. 4.ed. New York, Berlin: Springer, cap.1, p.1-39, 1996.

SETTY, A.R.; SIGAL, L.H. Herbal medications commonly used in the practice of rheumatology: mechanisms of action, efficacy, and side effects. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. vol.34, p.773–784, 2005.

SIGIURA K. Tumor transplantation. In: GAY W. *Methods of animal experimentation*. New York: Academic Press. p.177-222, 1965.

SILBERNAGL, S.; LANG, F. *Fisiopatologia: texto e atlas*. Porto Alegre/RS. Ed. Artmed. 416p. 2006.

SILVA, P. Farmacologia. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. Sexta edição, 2002.

SILVA, R.R.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; LEÃO, M.A. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. *Medicina Ribeirão Preto*. vol.35, p.127-133, 2002.

SILVA, M.C.; CARVALHO, J.C.T. *Inflamação*. In: CARVALHO JCT. Fitoterápicos antiinflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto, SP. Ed. Tecmed, 2004.

SILVA, M.G.; OLIVEIRA, F.S.; QUITANS – JR., L.J.; OLIVEIRA, T.M.L.; DINIZ, M.F.F.M. Investigação do Efeito Analgésico Central e Antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores. *Acta Farm Bonaerense*. vol.24, p.533-7, 2005.

SILVA, E.C.B. Avaliação Biológica da *Caesalpinia echinata* Lam. Fabaceae-Caesalpinoideae. Usos e riscos. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife 2006.

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

SINGLETARY, K. Diet, natural products and cancer chemoprevention. *The J of Nutrition*. p.465-6, 2000.

STEELE, V.E.; KELLOFF, G.J.; BALENTINE, D.; BOONE, C.W.; MEHTA, R.; BAGHERI, D.; SIGMAN, C.C.; ZHU, S.; SHARMA, S. Comparative chemopreventive mechanisms of green tea, black tea, and selected polyphenol extracts measured by in vitro bioassays. *Carcinogenesis*. vol. 21, p.63–67, 2000.

STEELE, V.E.; KELLOFF, G.J. Development of cancer chemopreventive drugs based on mechanistic approaches. *Mutation Research*. vol.591, p.16–23, 2005.

STOCK, C.C.; CLARCK, D.A.; PHILIPS, F.S.; BARCLAY, R.K. Sarcoma - 80 Inhibitor screening data. *Cancer Res*. vol.2, p.2-3, 1955.

SUCAR, D.D. *Fundamentos de interações medicamentosas dos psicofármacos com outros medicamentos da clínica médica*. São Paulo: Lemos Editorial, 2003, 238p.

SUGIURA, M.; et al. Cryptic dysfunction of cellular immunity in asymptomatic human immunodeficiency virus (HIV) carriers and its actualization by environmental immunosuppressive factor. *In vivo*. v.8 (6), p.1019-1022, 1994.

TALALAY, P.; TALALAY, P. The importance of using scientific principles in the development of medicinal agents from plants. *Academic Medicine* 76, 238–247, 2001.

TOLEDO, A.C.O.; et al. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. *Revista Lecta*, Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, jan./dez. 2003.

LIMA, C.M.P. *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr: da teoria medicinal à investigação toxicológica...

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.

VALADARES, M.C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste DL₅₀”. *Revista Eletrônica de Farmácia*. vol.3, n.2, p.93-98, 2006.

VEIGA-JÚNIOR, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M.. Plantas medicinais: cura segura? *Quim. Nova*, 28:3. 2005.

WINTER, C.A.; RISHLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carrageenan induced edema en hind paw as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol Méd.* vol. 3, p.544-547, 1962.

ZUCKERBERG, C. *Estrutura e histoquímica del Sarcoma 180*. 55p. (Doutorado) – Universidade de Buenos Aires, 1972.

_____ Ultraestrutura of Sarcoma 180. *Cancer Research*, Philadelphia.v.33, p.2278-2282, 1973