

## Setor 09. Produtos Naturais e Toxinologia

### 09.001

Anticancer *in vivo* activity of leaves from *Calea pinnatifida*. Marchetti, G. M.<sup>1</sup>; Santos, A. N.<sup>2</sup>; Tinti, S. V.<sup>2</sup>; Foglio, M.<sup>2</sup>; Carvalho, J. E.<sup>2</sup> <sup>1</sup>CPQBA - Farmacologia; <sup>2</sup>UNICAMP-CPQBA - Fitoquímica;

**Introduction:** More than 60% of chemotherapies used today are originated from natural products<sup>1</sup>. The genus *Calea* contain germacranolides as a common chemical component with many biological activities, such as antimicrobial and cytotoxic<sup>2,3</sup>. This work aimed the evaluation of *in vivo* anticancer activity of a Brazilian species *Calea pinnatifida* Banks. **Methods:** *C. pinnatifida* dried leaves were extracted with dichloromethane in Soxhlet during 48h resulting crude dichloromethanic extract (EBD). Anticancer activity of EBD was evaluated in two different assays, the Ehrlich ascite tumor (EAT) and Ehrlich solid tumor (EST). In both experiments  $1 \times 10^5$  cells were inoculated in the peritoneum (EAT) and subcutaneous (EST), respectively. In EAT, animals were treated with EBD, once a week, i.p., at doses of 50, 100 and 200 mg/kg (n=10). Whereas, in EST, animals were treated with EBD, every 48h, i.p., at doses of 50 and 100 mg/kg (n=7)<sup>4</sup>. The positive control was doxorubicin chloridrate at dose of 5.0 mg/kg. Results In EAT, anticancer activity was determined by the survival time and number of deaths of the treated groups compared to the control. The 200 mg/kg dose increased survival compared with negative control group (p=0,009). Both the 50 mg/kg and 100 mg/kg dose did not show any anticancer activity and the positive control (doxorubicin) increased survival, demonstrating antitumor activity (p<0.001)<sup>5</sup>. In EST, anticancer activity was determined by the relative tumor weight. With 100 mg/kg, DCE inhibited 67 % tumor growth (p=0.002; m<sub>saline</sub>=1,02g; m=0,34g) whereas 50 mg/kg dose did not show any antitumor activity (p=0.406; m=2,97g) and increased the tumor size. The positive control (doxorubicin) inhibited 72 % tumor growth (p<0.001; m=0,29g). **Discussion:** In EAT, EBD antitumoral action was confirmed by the prolongation of life-span of treated groups. These results could indicate either a direct cytotoxic effect on tumor cells, like we have seen *in vitro*, or an indirect local effect. To investigate whether the EBD inhibitory effect on Ehrlich tumor was local or systemic, the effect of intraperitoneal injection should be tested in EST. In this assay, solid tumor development was also inhibited by EBD treatment at a lower dose, 100 mg/kg, showing a systemic effect and a more effective treatment using a reduced administration interval. Further investigations are in progress in our laboratory to identify the active principles involved in this antitumor activity. 1. Rates, SMK. *Toxicol*, **39**: 603, 2001; 2. Ferreira, ZS. *et al. Ciência e Cultura* (São Paulo), **32**:83,1980. 3. Nakagawa, Y. *et al. J. Pharmacol. Sci.*, **97**: 242, 2005. 4. Nascimento, FRF *et al. Life Sci.*, **78**: 2650, 2006. 5. Marchetti, GM *et al. J. Bras. Fitomedicina*. **5**:74, 2007 Apoio Financeiro: Financial Support: Capes, Fapesp, CNPq.

**09.002**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

### 09.003

Atividade anticâncer dos extratos brutos de *Croton campestris* St Hill, utilizado popularmente no tratamento de parasitoses. Vendramini Costa, D. B.<sup>1</sup>; Ruiz, A. L.<sup>1</sup>; Foglio, M.<sup>2</sup>; Carvalho, J. E.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>UNICAMP-CPQBA - Farmacologia e Toxicologia; <sup>2</sup>UNICAMP-CPQBA - Fitoquímica

**Introdução:** O câncer atinge milhões de pessoas em todo o mundo. Cerca de 60% dos quimioterápicos utilizados no seu tratamento provêm de fontes naturais, como plantas, microorganismos e organismos marinhos<sup>1</sup>. Alguns desses quimioterápicos foram desenvolvidos para o tratamento de processos infecciosos e, por isso, muitos estudos de triagem de fármacos com ação anticâncer incluem plantas utilizadas no tratamento de processos infecciosos e parasitários. Assim, esse estudo teve por objetivo avaliar a atividade antiproliferativa dos extratos brutos diclorometânico (EBD) e etanólico (EBE) das folhas de *Croton campestris* St Hill, Euphorbiaceae, utilizado popularmente no tratamento de parasitoses. **Métodos:** O material vegetal foi submetido à maceração dinâmica com diclorometano até seu esgotamento. O volume resultante foi filtrado a vácuo e o solvente eliminado em rotaevaporador, obtendo-se o EBD. O resíduo vegetal foi extraído com etanol 95%, o solvente eliminado em rotaevaporador e o resíduo liofilizado, resultando no EBE. A atividade antiproliferativa foi avaliada em linhagens de células tumorais humanas de mama (MCF-7), pulmão (NCI-H460), melanoma (UACC-62), próstata (PC-03), rim (786-0), cólon (HT-29), ovário (OVCAR-3) e ovário com fenótipo de resistência a múltiplos fármacos (NCI/ADR-RES), nas concentrações de 0,25; 2,5; 25 e 250 µg/mL, utilizando-se doxorubicina como controle positivo. Após 48h de tratamento, a atividade foi determinada através do método da sulforrodamina B<sup>2</sup> e, a partir das curvas concentração-efeito, foi calculada a concentração inibitória máxima (TGI)<sup>3</sup>. **Resultados:** O EBD apresentou atividade citostática para UACC-62 (TGI = 111,83 µg/mL), PC-03 (TGI = 33,98 µg/mL) e HT-29 (TGI = 97,58). Já o EBE apresentou atividade citostática para NCI-H460 (TGI = 29,73 µg/mL), PC-03 (TGI = 110,91 µg/mL) e 786-0 (TGI = 41,21 µg/mL). **Discussão:** Os extratos apresentaram atividade citostática para a maioria das linhagens, sendo o EBD seletivo para PC-03 e o EBE para NCI-H460 e 786-0. A atividade antiproliferativa e a seletividade dos extratos sugerem a presença de princípios ativos diferentes. Os resultados com EBD também demonstram correlação com a atividade citotóxica para *Bulinus truncatus*, hospedeiro intermediário de *Schistosoma haematobium*<sup>4</sup>. O fracionamento biodirecionado desses extratos possibilitará a identificação dos grupos químicos responsáveis pela atividade. (1) Mann J. *Nat Rev Cancer* **2**: 143, 2002. (2) Skehan P *et al.* *J Natl Cancer Inst* **82**: 1107, 1990. (3) Shoemaker RH. *Nat Rev Cancer* **6**: 813, 2006. (4) El Babili F *et al.* *Fitoterapia* **77**: 384, 2006. Apoio Financeiro: APOIO: FAPESP, CNPq

#### 09.004

Atividade antiproliferativa do óleo essencial das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. Dutra, R. C.<sup>1</sup>; Pittella, F.<sup>1</sup>; Dittz, D. J.<sup>2</sup>; Lopes, M. T. P.<sup>2</sup>; Barbosa, N. R.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFJF-NIQUA; <sup>2</sup>UFMG - Farmacologia

**Introdução:** *Pterodon emarginatus* Vogel, conhecida popularmente por sucupira-branca ou faveiro é uma leguminosa de ampla dispersão pelo Brasil, nativa dos cerrados brasileiros, sendo encontrada em Minas Gerais, São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul. Na medicina popular a infusão de suas cascas, folhas e sementes têm eficiente ação anti-reumática, analgésica e antiinflamatória. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antiproliferativa do óleo essencial obtido das sementes de *Pterodon emarginatus* em linhagens de células tumorais. **Métodos:** Sementes de *Pterodon emarginatus* foram coletadas em Três Marias/MG – depositadas no Herbário CESJ (n° 48077)/Universidade Federal de Juiz de Fora. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação em Clevenger por 4 h. A atividade citotóxica foi realizada nas linhagens celulares: C6 (glioma de rato), MeWo (melanoma humano), CT<sub>26</sub>.WT (carcinoma de cólon de camundongo), MDA-MB231 (câncer de mama humano), A<sub>549</sub> (carcinoma de pulmão humano), B<sub>16</sub>-F<sub>1</sub> (melanoma de camundongo), CHO-K1 (célula normal de ovário de hamster) e BHK-21 (fibroblasto normal de rim de hamster). Suspensões celulares foram semeadas em microplacas de 96 poços contendo 5x10<sup>3</sup> células/poço, após contagem em câmara de Neubauer. As células foram incubadas em atmosfera úmida a 5% de CO<sub>2</sub> a temperatura de 37°C. Após 24 h, foi adicionado o OE de *Pterodon emarginatus* nas concentrações desejadas (20 – 50 µg/mL). A leitura de absorvância foi realizada em 96 ou 120 h após a adição do extrato, em espectrofotômetro a 600 nm, tendo sido o MTT adicionado 4 h antes das leituras (50 mg/poço). O taxol<sup>®</sup> foi utilizado como controle positivo. Os cálculos da concentração de inibição a 50% (CI<sub>50</sub>), foram realizados por meio de uma regressão linear simples. Esses valores juntamente com os limites de confiança de 0,05 foram calculados com o auxílio do *software* SigmaPlot 10.0 (Systat Software, Inc.). **Resultados e Discussão:** O OE apresentou citotoxicidade contra todas as linhagens tumorais testadas. O valores de CI<sub>50</sub> foram de 24,9 e 3,43 x 10<sup>-6</sup> mg/mL (C6), 25,5 e 1,08 x 10<sup>-2</sup> mg/mL (MeWO), 32,0 e 3,79 x 10<sup>2</sup> mg/mL (CT<sub>26</sub>.WT), 33,5 e 6,71 x 10<sup>-6</sup> mg/mL (MDA- MB231), 47,0 e 6,03 x 10<sup>-6</sup> mg/mL (A<sub>549</sub>) e 43,4 e 3,55 x 10<sup>-6</sup> mg/mL (B<sub>16</sub>F<sub>1</sub>), respectivamente para o OE e taxol<sup>®</sup>. Os resultados apresentados são promissores e indicam constituintes citotóxicos no OE obtido das sementes de *Pterodon emarginatus*, os quais podem representar um alvo potencial para ação terapêutica antitumoral. Apoio Financeiro: CAPES

## 09.005

Antiproliferative activity of a terpene rich fraction from *Calea pinnatifida*. Marchetti, G. M.<sup>1</sup>; Santos, A. N.<sup>2</sup>; Ruiz, A. L.<sup>1</sup>; Foglio, M.<sup>2</sup>; Carvalho, J. E.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UNICAMP - CPQBA - Farmacologia; <sup>2</sup>UNICAMP - CPQBA - Fitoquímica

**Introduction:** Cancer is characterized by instable cells that do not respond to outside stimulus that controls proliferation, differentiation and death. Germacranolides are sesquiterpenes lactones with high potency against cancer cells. Phytochemical studies showed the presence of these compounds in *Calea pinnatifida* leaves extracts<sup>1,2</sup>. These compounds are frequently described as responsible for antiproliferative activities with apoptosis induction<sup>3</sup>. Therefore the study of anticancer activity of *Calea pinnatifida* extracts and substances became important.

**Methods:** *C. pinnatifida* dried leaves were extracted with dicloromethane in Soxhlet during 48h resulting crude dicloromethanic extract (EBD). An EBD aliquot (250 mg) was dissolved in ethanol PA (10mL) and a basic solution of lead acetate (50mL) was added. The mixture was filtrated after 24h at 4°C and the filtrate was extracted with ethyl acetate affording the acetate fraction (FrAc). Antiproliferative activity was evaluated in tumor and normal cell lines of breast (MCF-7), lung (NCI-H460), melanoma (UACC-62), prostate (PC-3), kidney (786-0), colon (HT-29), ovary (OVCAR-03), multi drug resistance ovary (NCI-ADR/RES), leukemia (K562), green monkey kidney epithelia (VERO) and hamster lung fibroblast (V-79). Samples were tested in a concentration range of 0.25 to 250 mg/ml and doxorubicin was used as positive control. After 48h of treatment, the activity was measure by the sulforrodamine B method and total growth inhibition was calculated by non linear regression<sup>4,5</sup>.

**Results:** EBD showed antiproliferative activity in human tumor cells with selectivity for melanoma (TGI: 8.46 mg/mL) and leukemia (TGI: 42.91 mg/mL) and FrAc appeared to be more potent with selectivity to breast (TGI: 5.90 mg/mL) and kidney (TGI: 4.67 mg/mL). On the other hand, this fraction lost activity against melanoma and leukemia cell line. In normal cells, EBD showed less citotoxicity than FrAc.

**Discussion:** FrAc, which is rich in terpenes, is more potent than EBD and showed selectivity to breast and kidney cancer. The substances presented in EBD responsible for antiproliferative activity in melanoma and leukemia should be phenolic compounds which were precipitated by lead. Therefore, EBD and FrAc purification will permit isolation of active principles responsible for anticancer activity of *Calea pinnatifida*. 1. Ferreira, Z.S. *et al. Ciência e Cultura* (São Paulo), 32:83, 1980. 2. Gottlieb, H.E. *Phytochemistry*, 19:1481, 1980. 3. Nakagawa, Y. *et al. J. Pharmacol. Sci.*, 97:242, 2005. 4. Skehan P *et al. J Natl Cancer Inst* 82: 1107, 1990. 5. Shoemaker RH. *Nat Rev Cancer* 6: 813, 2006. Apoio Financeiro: Financial Support: Capes, Fapesp, CNPq.

## 09.006

Contractile effects of herbal drug catuama on rat cardiac muscle. Coutinho, M. P.; Koike, M. K.; Velasco, I. T.; Scalabrini Neto, A. FMUSP - Clínica Médica - Emergências Clínicas (LIM51)

**Introduction:** Catuama is a crude herbal medicine, made in Brazil over 20 years. It is a mix of four plants extracts, *Trichilia catigua*, *Paullinia cupana*, *Zinziber officinalis* and *Ptychopetalum olacoide*, used in chronic diseases such as erectile-dysfunction, physical and mental fatigue. Catuama effects on cardiac physiology are still unknown. Our group has demonstrated reversion and prevention effects of Catuama and *Trichilia catigua* on ventricular fibrillation in isolated rabbit heart. The aim of this study is to investigate the acute effects of Catuama and its extracts on normal mechanic cardiac function. **Methods:** Isolated papillary muscles of Wistar adult rats were used. The groups were constituted according to papillary muscle's treatment (n=6, each one) such as: Catuama, *Trichilia catigua*, *Paullinia cupana*, *Zinziber officinalis*, *Ptychopetalum olacoide* and Tween 80 with 10, 20, 40, 80, 100, 200, 400, and 800 mg/mL doses. The muscle mechanic function was analyzed by isometric and isotonic contractions. **Results:** The results showed that Catuama interfered in papillary relaxation, increasing the relaxation velocity in doses of 200, 400 e 800 mg/mL (26, 49 and 90%, respectively) and decreasing contraction strength or force in the highest dose (13%). *Zinziber officinalis* decreased relaxation and contraction strength since 40 mg/mL dose (6 e 10%, respectively). *Paullinia cupana* decreased contraction velocity since 40 mg/mL dose (11%), decreasing also the relaxation velocity in 20 mg/mL dose (5%) and relaxation and contraction strength since 20 and 10 mg/mL doses (3% both). *Ptychopetalum olacoide* also decreased the relaxation and contraction strength 40 and 10 mg/mL doses (7 and 6%, respectively). Tween 80 decreased contraction velocity in 200, 400 and 800 mg/mL doses (8, 10 and 13%, respectively) and relaxation and contraction strength since 10 mg/mL dose (7 and 6%, respectively). *Trichilia catigua* did not interfere in cardiac muscle contractility even in highest doses. **Conclusions:** These data suggest that Catuama and/or *Trichilia catigua* did not interfere in normal cardiac muscle and are safety to be used *in vivo* tests. Apoio Financeiro: CAPES and Fundação Faculdade de Medicina

## 09.007

Piplartine induces G<sub>2</sub> phase arrest and mitochondrial-dependent apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Militão, G. C. G.<sup>2</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Silveira, E. R.<sup>3</sup>; Lima, M. A. S.<sup>3</sup>; Lotufo, L. V.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFPI; <sup>3</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica

**Introduction:** Piplartine, a known alkaloidal amide component from peppers, is a potent cytotoxic agent, which suppresses cancer cell growth triggering apoptosis and/or necrosis pathways (Bezerra *et al.*, Toxicol. In Vitro 21; 1, 2007; Bezerra *et al.*, J. appl. Toxicol. 28, 156, 2008). The *in vitro* cytotoxic effects were assessed by cell cycle analysis using human promyelocytic leukemia HL60 cells as model. In order to investigate the piplartine-induced apoptosis, the mitochondrial pathway was also studied. **Methods:** Number of viable cells, cell membrane integrity, cell morphology, mitochondrial transmembrane potential, cell cycle distribution, and internucleosomal DNA fragmentation were determined by flow cytometric methods after 3, 6, 12, and 24 hours of piplartine (2.5, 5, and 10 µg/mL) incubation. In addition, the mitotic index was determined by hematoxylin and eosin stains. **Results and discussion:** Piplartine displayed potent cytotoxicity against HL60 cells at tested concentrations, as observed by the reduction of the number of viable cells after 24 hours (50.14%, 64.41%, and 69.62%). Moreover, piplartine treatment induced mitochondrial-dependent apoptosis in a time- and dose-dependent manner, as observed by morphology, cell membrane integrity, mitochondrial membrane potential loss and an increase in internucleosomal DNA fragmentation (33.21%, 40.53%, and 51.59% after 24 hours). Additionally, cell cycle and mitotic index analyses demonstrated that piplartine induces G<sub>2</sub> arrest. Our findings show that piplartine induced G<sub>2</sub> phase arrest followed by mitochondrial-dependent apoptosis. These data confirmed that piplartine has promising anticancer potential. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FINEP, FUNCAP, and ICB.

## 09.008

A potent and nitric oxide dependent hypotension induced by the ethyl acetate fraction obtained from *Maytenus ilicifolia* in normotensive rats. Crestani, S.<sup>1</sup>; Rattmann, Y. D.<sup>1</sup>; Soares, K. C. N.<sup>1</sup>; Kassuya, C. A. L.<sup>1</sup>; Cipriani, T. R.<sup>2</sup>; Iacomini, M.<sup>2</sup>; da Silva-Santos, J. E.<sup>3</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFPR - Bioquímica; <sup>3</sup>UFPA - Farmacologia Experimental e Pré-Clínica

**Introduction:** *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek, popularly known as *Espinheira Santa*, is used and experimentally proved as efficient to treat gastric disorders. In addition, it is described as benefic against hypertension, although these properties have not been properly investigated.

**Objective:** In this work, we evaluated the effects of two semi-purified fractions of the extract of *M. ilicifolia*: the aqueous fraction (AQF) and the ethyl acetate fraction (AEF) on the blood pressure of normotensive rats. **Methods:** Groups of male Wistar rats (200–250 g) were anesthetized with ketamine (100 mg/kg) and xylazine (20 mg/kg). The left femoral vein and the right carotid artery were isolated, and polyethylene catheters (PE 10 and PE20) were inserted for drug administration and blood pressure recording, respectively. **Results:** The intravenous (i.v.) injection of AQF (5, 10, 20 and 30 mg/kg) reduced the mean arterial pressure (MAP) in  $14.2 \pm 1.8$ ,  $15.9 \pm 2.4$ ,  $22.8 \pm 1.3$  and  $28.9 \pm 7.2$  mmHg, respectively (basal MAP  $109.5 \pm 2.5$  mmHg;  $n = 6$ ). The hypotensive effect induced by AEF (5, 10, 20 and 30 mg/kg, i.v.) was  $5.2 \pm 1.2$ ,  $16.6 \pm 4.1$ ,  $40.8 \pm 5.7$  and  $114.3 \pm 7.1$  mmHg, respectively (basal MAP  $110.8 \pm 4.7$  mmHg;  $n = 6$ ). The effect of AEF (10 mg/kg, i.v.) was fully avoided in animals infused with L-NAME (a nitric oxide synthase inhibitor, 7 mg/kg/min), and strongly inhibited (by 95%) in those treated with methylene blue (a guanylate cyclase inhibitor, 150 nmol/kg/min) 96.7%. The administration of tetraethylammonium (TEA, a non-selective potassium channel blocker, 360  $\mu$ mol/kg, i.v.), 4-aminopyridine (a voltage-sensitive potassium channel blocker, 2  $\mu$ mol/kg, i.v.), or glibenclamide (an -ATP-sensitive potassium channel blocker, 40  $\mu$ mol/kg; i.v.), reduced the hypotensive effect of AEF (10 mg/kg) by 78.7, 95.4 and 47.4%, respectively. **Conclusion:** This study shows that the plant *M. ilicifolia* has one or more components able to reduce the blood pressure of normotensive rats. Our results indicate that the mechanism responsible for the action of the semi-purified fraction AEF involves the activation of the nitric oxide/guanylate cyclase pathway and opening of potassium channels.



## 09.009

Avaliação da atividade anticolinesterásica de *Tabernaemontana catharinensis* A.D.C E *T. Laeta* Mart. Costa, T. W. R.<sup>1</sup>; Sousa, P. M.<sup>2</sup>; Rezende, C. M.<sup>3</sup>; Miranda, A. L. P.<sup>4</sup>; Lima, J. A.<sup>3</sup>; Pinto, A. C.<sup>3</sup> - <sup>1</sup>UNISUAM-CCS; <sup>2</sup>UFRJ-COPPE; <sup>3</sup>UFRJ-IQ; <sup>4</sup>UFRJ - Farmácia - FÁRMACOS - LASSBio

**Introdução:** O gênero *Tabernaemontana* (Apocynaceae) compreende cerca de 100 espécies ricas em alcalóides indólicos. Alguns destes alcalóides apresentam ação antitumoral, antiofídica, anticolinesterásica, antiparasitária, alucinógena, antimicrobiana e outras. Devido ao contínuo interesse pela investigação de atividade anticolinesterásica de espécies de *Tabernaemontana* que ocorrem no Brasil, foram avaliados os extratos das espécies *T. laeta* e *T. catharinensis*. Este trabalho avaliou a inibição da atividade das enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE) do extrato bruto em etanol e das frações em clorofórmio dos galhos de *T. laeta* (TLCE) e *T. catharinensis* (TCCE). **Métodos:** A atividade das enzimas AChE do peixe elétrico e BChE de cavalo foi avaliada pelo método espectrofotométrico de Ellman (1961). A atividade (Abs/min) das enzimas na presença do extrato/fração foi determinada por comparação com o controle e expressa como mudança do desvio ótico a 405 nm. O ensaio foi realizado em triplicata, utilizando-se microplaca de 96 poços, lida a cada 20 seg, durante 5 min. A cada 3 poços foi adicionado 5 uL de enzima (2,5 U/mL), 5 uL de reagente DTNB 0,01M, 185 uL de cada concentração (1-100 ug/mL) do extrato/fração a ser testado ou do controle (tampão fosfato) e, após 10 min de incubação, 5uL de substrato na concentração de 0,02mM. Os valores de IC<sub>50</sub> foram calculados com o programa *Graph Pad Prism 4*, com curvas de regressão não-linear. O IC<sub>50</sub> corresponde ao valor de duas curvas, cada uma em triplicata. **Resultados:** As frações em clorofórmio (TLCE1-C79 e TLCE1-C5) e o extrato bruto em etanol (TLCE2-EB) de *T. laeta* inibiram a atividade da AChE, com IC<sub>50</sub> de 32,79 ± 1,85; 19,45 ± 12,25 e 87,11 ± 3,9 ug/mL, respectivamente. O extrato não inibiu, entretanto, a BChE, enquanto que as frações o fizeram. A fração TLCE1-C79 apresentou IC<sub>50</sub> de 50,89 ± 4,08 ug/mL e a fração TLCE1-C5, IC<sub>50</sub> de 16,65 ± 2,43 ug/mL. As frações em clorofórmio (TCCE1.1-C11, TCCE2.1-C79 e TCCE3-C35) de *T. catharinensis* inibiram a atividade da AChE, com IC<sub>50</sub> de 11,42 ± 3,35; 18,83 ± 0,12; e 40,89 ± 6,16 ug/mL, respectivamente. Estas frações também inibiram a atividade da BChE com TCCE1.1-C11 apresentando IC<sub>50</sub> de 21,96 ± 2,06 ug/mL, TCCE2.1-C79, IC<sub>50</sub> de 36,43 ± 5,85 e TCCE3-C35, IC<sub>50</sub> de 29,26 ± 1,05 ug/mL. O extrato da *T. catharinensis* não inibiu qualquer das enzimas. **Discussão:** As frações testadas inibiram a atividade de ambas as enzimas em baixas concentrações. As características farmacológicas específicas, incluindo inibição dual das enzimas, podem contribuir para o desenvolvimento de medicamentos com maior segurança, tolerabilidade e eficácia farmacêutica, úteis no tratamento do mal de Alzheimer. Apoio Financeiro: CAPES; CNPq; FAPERJ.

## 09.010

Avaliação preliminar da atividade cicatrizante do extrato de *Salvia officinalis* em úlceras induzidas por ácido acético em ratos. Allemand, A.<sup>1</sup>; Potrich, B. P.<sup>1</sup>; Silva, L. M.<sup>1</sup>; Freitas, C. S.<sup>1</sup>; Werner, M. F. P.<sup>2</sup>; Otuki, M. F.<sup>1</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Farmacologia

**Introdução:** As folhas da *Salvia officinalis* são bastante conhecidas por suas propriedades antioxidantes. Estudos prévios realizados pelo nosso grupo sugerem uma atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico de *S. officinalis* (EH) em úlceras induzidas por etanol. Este trabalho tem como objetivo verificar o potencial cicatrizante do EH em úlceras já estabelecidas. **Métodos:** Ratas (250 g) em jejum de 18h foram anestesiadas para a realização da indução das úlceras. Após a exposição do estômago, foi aplicado um cilindro de vidro de 6 mm de diâmetro, sobre a serosa do estômago, dentro deste foi injetado 500 µl de ácido acético 80%. Após 1 minuto o ácido foi aspirado, o estômago lavado com salina e a parede abdominal suturada. Para avaliar o início da formação da úlcera e a sua cicatrização, no dia seguinte à cirurgia, grupos de 4 animais foram eutanasiados durante todos os dias até o 10º dia. Ao concluir que a úlcera começa a ser formada entre o 2º e 3º dia e sua cicatrização espontânea entre o 7º e 8º, optou-se por realizar o tratamento (2x ao dia, via oral) com o EH (0,3 mg/kg) do 3º ao 5º dia. Após os tratamentos os animais foram sacrificados, seus estômagos retirados e fotografados e as áreas das lesões mensuradas (mm<sup>2</sup>) através do software ImageJ. Foram realizadas dosagens de glutathiona reduzida (GSH) e atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), após a avaliação das lesões gástricas. **Resultados:** Os grupos tratados com água (0,5 mL/200 g) e omeprazol (40 mg/kg) apresentaram uma média de área das lesões de 63,77 ± 15,61mm<sup>2</sup> e 37,44 ± 5,67 mm<sup>2</sup> respectivamente. O grupo tratado com o extrato (0,3 mg/kg) apresentou 30,63 ± 4,0 mm<sup>2</sup> de área lesionada, acarretando uma diminuição de 51,96% comparada ao controle água. Os níveis de GSH no tecido sem úlcera ficaram em torno 414,8 ± 95,4 µg/g tecido. Uma redução de 68,39% foi apresentada pelo tecido ulcerado (131,1 ± 71,39). O tratamento com EH não foi capaz de reverter esses níveis de GSH que ficaram em torno de 206,0 ± 71,06 µg/g tecido não sendo esse valor significativo quando comparado ao tecido lesado. A atividade da MPO apresentada pelo controle e pelo grupo tratado com o extrato foram 69,0 ± 24,06 mDO/mg de proteína e 15,78 ± 10,74 mDO/mg de proteína sendo esta redução significativa: 77,13%. **Discussão:** O EH foi efetivo na resolução da úlcera já formada, observada no modelo de úlcera crônica induzida pelo ácido acético. Um fator importante para este efeito do EH pode ser a diminuição do infiltrado de neutrófilos, observada através da redução da atividade da MPO. O EH não alterou os níveis de GSH com a dose utilizada. Porém, estudos com diferentes doses do extrato e em relação à atividade antioxidante (já confirmada em estudos prévios), serão realizados. Apoio Financeiro: CNPq

## 09.011

Cytotoxic activity of fungi strains from the marine mollusk *Pugilina morio*. Rodrigues, F. A. R.<sup>1</sup>; Jimenez, P. C.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Magalhães, F. E. A.<sup>2</sup>; Oliveira, M. C. F.<sup>2</sup>; Angelim, A. L.<sup>3</sup>; Melo, V. M. M.<sup>3</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>3</sup>UFC - Biologia

**Introduction:** Biodiversity is an unlimited source of new antitumor drugs, and about 74% of anticancer compounds are either natural products or natural product-derived. Recently, the investigation of endosymbiont fungi from marine invertebrates as a source of cytotoxic compounds was initiated in our group. Herein, we report the cytotoxicity on cultured tumor cell lines of extracts derived from 10 endosymbiont fungi strains isolated from the mollusk *Pugilina morio*. **Material and Methods:** The mollusk *Pugilina morio* was collected at the mangrove of Barra do Ceará, Fortaleza-CE, Brazil. Ten strains (PMF1-PMF10) were isolated as endosymbiont fungi from *P. morio* following literature procedure, with few modifications. All strains were grown for 21 days under static condition and at room temperature in three liquid medium: Potato-Dextrose (PD), Czapeck-Dextrose (CzD) and Peptone-Dextrose (PepD), all brought up with synthetic sea water. Mycelium was separated from the liquid medium by vacuum filtration and extracted with methanol (3 x 100 mL). The broth was subjected to liquid-liquid extraction with ethyl acetate (3 x 100 mL). Solvent distillation of both organic fractions (MeOH and EtOAc) provided the corresponding organic extracts which were tested for cytotoxicity against 3 human cancer cell lines: SF-295 (glioblastoma), HCT-8 (colon carcinoma) and MDA-MB435 (melanoma) using the MTT assay. **Results and Discussion:** Sixty organic extracts (50 mg/mL), 30 from mycelium and 30 from liquid medium in 3 different culture broth, were bioassayed and thirteen of them showed cytotoxic activity (Growth Inhibition >70%). Extracts PMF3PDIm, PMF3CzDIm from liquid medium and PMF6PepDMyc from mycelium were highly active against all cell lines tested inhibiting a 100% of the cell growth and will be subjected to bioassay-guided chromatography to isolate the active compounds. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP and Institute Claude Bernard.

## 09.012

Tx2-6 from *Phoneutria nigriventer* spider potentiates pro-erectile response in cavernosum tissue by facilitating the Nitric Oxide pathway. Nunes, K. P.<sup>1</sup>; Cordeiro, M. N.<sup>2</sup>; Richardson, M.<sup>2</sup>; Tostes, R. C. A.<sup>3</sup>; de Lima, M. E.<sup>1</sup>; Leite, R.<sup>5</sup>; Webb, R. C.<sup>4</sup> - <sup>1</sup>UFMG-ICB; <sup>2</sup>Fundação Ezequiel Dias - Farmacologia; <sup>3</sup>USP - Farmacologia; <sup>4</sup>Medical College of Georgia - Fisiologia; <sup>5</sup>Medical College of Georgia – UFOP - Farmácia

**Background:** Human accidents involving the spider *P. nigriventer* are characterized by different symptoms including priapism. Some toxins from the poison animals exert their toxic effects by modifying the properties of ion channels. The aim of this study is to investigate the action of the toxin Tx2-6 in the relaxation of male erectile tissue. **Methods:** We used rat and mouse cavernosum tissue. NO release was detected in cavernosum slices with fluorescent dye (DAF-FM) and confocal microscopy. Isolated strips were contracted by phenylephrine ( $10^{-5}$  M) and the relaxation was induced by electrical field stimulation (EFS), acetylcholine, or sodium nitroprusside in the absence or in the presence of Tx2-6 ( $10^{-9}$  M). The effect of Tx2-6 on the relaxation induced by EFS was tested also in the presence of atropine ( $10^{-6}$  M),  $\omega$ -conotoxin GVIA ( $10^{-6}$  M) and nifedipine ( $10^{-7}$  M). **Results:** Tx2-6 treatment significantly increased NO release in cavernosum tissue. EFS-induced relaxation was significantly improved in the presence Tx2-6 toxin (% of relaxation at 16 Hz =  $33.18 \pm 4.14$  vs.  $56.07 \pm 4.06$ , control and Tx2-6 treated, respectively), and this potentiating effect was not affected by atropine ( $40.04 \pm 4.29$  vs.  $57.34 \pm 4.8$ ). Relaxation induced by sodium nitroprusside or acetylcholine were not affected by Tx2-6 treatment. The blockade of N-Type and L-Type calcium channels completely abolished the potentiating effect on cavernosal relaxation induced by Tx2-6 ( $42.07 \pm 5.14$  vs.  $50.23 \pm 4.04$  and  $45.79 \pm 2.51$  vs.  $45.44 \pm 3.28$ , respectively). Data was expressed as % of relaxation and analyzed by Two-Way ANOVA, followed by Student-Neuman-Keuls test. **Discussion:** This study suggests that Tx2-6 is probably one of the most important components of the venom responsible for the priapism observed in poisoning accidents with the *P. nigriventer* spider. Our data indicates that Tx2-6 potentiates the relaxation induced by EFS in rat and mouse cavernosum tissue via activation of calcium channels (probably by slowing down the inactivation of Na<sup>+</sup> channels). This effect on calcium mobilization facilitates the neuronal and endothelial nitric oxide/cyclicGMP pathway. Furthermore, our results suggest that Tx2-6 is a pharmacological tool with a great potential to treat erectile dysfunction. Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG, NIH

### 09.013

Estudo do mecanismo de ação antitumoral de fração proteolítica do látex de *Carica candamarcensis* em modelo murino de melanoma não-metastático. Dittz, D. J.<sup>1</sup>; Alves A. C.<sup>1</sup>; Figueiredo, C.<sup>1</sup>; Salas C. E.<sup>2</sup>; Lopes, M. T. P.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia

**Introdução:** Estudos recentes realizados pelo nosso grupo de pesquisa demonstraram que P1G10, uma fração constituída de cisteíno proteases obtida do látex de *Carica candamarcensis*, após cromatografia em coluna Sephadex G10, exerce atividades antitumoral/antimetastática sobre melanomas murinos. Os efeitos foram evidenciados pela redução da massa tumoral e diminuição do número de metástases (Figueiredo, C. *et al.* 39<sup>o</sup> Cong Bras Farm Ter Exp. 2007, 09119, Ribeirão Preto, SP.). A partir de então, temos como objetivo buscar possíveis mecanismos para explicar a ação antitumoral de P1G10, sendo que neste trabalho o modelo estudado foi o de tumor murino não metastático (B16-F1). **Métodos e Resultados:** Inicialmente, para a determinação da atividade citotóxica, *in vitro*, células B16-F1 semeadas em placas de 96 cavidades foram expostas a P1G10 ( $10^{-4}$  a  $5 \times 10^{-6}$  g/mL) por 72 h, quando a viabilidade celular foi determinada através do método do MTT ( $IC_{50} = 2,65 \times 10^{-5}$  g/mL). Na seqüência, células viáveis da mesma linhagem, previamente expostas por 2 h a concentrações menores que a  $IC_{50}$  da fração ( $10^{-6}$  e  $10^{-5}$  g/mL) e, posteriormente, inoculadas, *s.c.*, em camundongos C57BL/6J, resultaram na formação de tumores com pesos 52 e 63% menores ( $1,65 \pm 1,30$  g e  $1,29 \pm 0,95$  g, respectivamente,  $p > 0,05$ , ANOVA pós teste Dunnet) em relação ao grupo controle ( inoculação de células sem tratamento prévio-  $3,44 \pm 3,08$  g). Apesar de não haver significância estatística, os resultados apontam uma tendência a redução da massa tumoral. A participação da atividade proteolítica de P1G10 na ação antitumoral foi avaliada em camundongos C57BL/6J portadores de melanoma B16-F1 expostos à fração com os grupos catalíticos inibidos ou não por iodoacetamida, *s.c.*, na dose de 5 mg/kg por 15 dias. Como resultado foi observada uma redução no peso dos tumores de aproximadamente 30% em ambos os grupos ( $1,88 \pm 1,49$  g e  $1,71 \pm 1,38$  g, respectivamente  $p > 0,05$ , ANOVA pós teste Dunnet) em relação ao grupo controle (salina -  $2,67 \pm 1,74$  g). **Discussão:** Dessa forma, pôde-se observar que P1G10 demonstra uma atividade antitumoral em melanoma não metastático, a qual independe da sua atividade proteolítica. Além disso, os resultados evidenciam uma tendência à diminuição do desenvolvimento do tumor após o tratamento, *in vitro*, das células com P1G10, sugerindo que a fração exerce ação sobre as moléculas de superfície, provavelmente de adesão, das células tumorais. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES e FAPEMIG

#### 09.014

Sobrevida de camundongos portadores de melanomas metastático e não-metastático tratados com fração proteolítica do látex de *C. candamarcensis*. Figueiredo, C.<sup>1</sup>; Lopes, M. T. P.<sup>1</sup>; Salas, C. E.<sup>2</sup> <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia

**Introdução:** Recentemente, estudos mostraram que a bromelina, uma cisteíno protease, pode aumentar a sobrevida de animais para vários tipos de tumores como o Ehrlich<sup>1</sup>. Fração proteolítica do látex de *C. candamarcensis* (P1G10), rica em cisteíno proteinases, vem se apresentando como promissor antitumoral e antimetastático<sup>2</sup>. Neste estudo, avaliamos a sobrevida dos animais portadores de melanomas, tendo como parâmetro o antitumoral 5-FU.

**Métodos:** Em modelo tumoral B16F1, camundongos C57BL6 (n=43) receberam inóculo de células, s.c.<sup>3</sup> e, após 4 dias, se iniciou o tratamento diário com P1G10 5,0 mg /kg ou solução salina (controle), s. c., por 15 dias ou 5-FU, i.p., 20 mg/kg, também, por 15 dias em ciclos de 5 dias. A avaliação da atividade antimetastática foi feita com camundongos C57BL6 (n=39) que receberam inóculo de células B16F10, s.c. na orelha<sup>4</sup>. Após o desenvolvimento do tumor, ± 15 dias, as orelhas foram extirpadas e se iniciou o tratamento diário com P1G10 (5,0 mg/kg; controle-salina), s. c., por 21 dias e 5-FU, i.p., 20 mg/kg conforme descrito acima. Por 15 dias após o término do tratamento, para ambos os modelos, se contabilizaram diariamente os óbitos dos animais, se pesaram os tumores (modelo B16F1) e se contabilizaram os pontos metastáticos (B16F10). **Resultados e Discussão:** Para o modelo B16F1, até o 8º dia, não se observou óbito no grupo tratado com P1G10, sobreviveram 66,6% do controle (peso do tumor: 436,9±147,6 mg) e 73,3% dos tratados com 5-FU (peso do tumor: 107,4 ±142,0 mg, p<0,05, ANOVA pós teste Dunnet). No 15º dia, se observou maior sobrevivência para o grupo 5-FU (57,1%) e P1G10 (42,8%) do que para o controle, que foi 20 % (p< 0,05; Kaplan-Meier, pós teste H. Fleming). O peso do tumor esteve diminuído para o grupo 5-FU (606,2±182,8 mg) e tende a redução para o grupo P1G10 (778,5 ±652,7, p>0,05) em relação ao controle (1213,0±1190,2mg). Para o modelo metastático, não houve mortes para o grupo P1G10 até o 9º dia, sendo a sobrevivência de 69,2% para o controle e 76,9% para o 5-FU. Ao final, houve maior sobrevida para P1G10 (76,9%) e 5-FU (69,2%) em relação ao controle (38,4%, p< 0,05). Houve, também, uma redução do número de pontos de metástase para os grupos P1G10 (4,7±6,4) e 5-FU (9,5±9,5) em relação ao controle (17±18,3 p<0,05, ANOVA pós teste Dunnet). Desta forma, sob a ação de P1G10, ficou demonstrado um aumento de sobrevivência em ambos os modelos, melhor evidenciado na inibição do desenvolvimento tumoral do modelo metastático. **Referências:** 1. Baez, R. *Planta Med.*73, 1-7, 2007. 2. Figueiredo, C. *et al.* 39º *Con Bras Farm Ter Exp*, 2007, R. Preto, SP. 3. Wald, M. *Pharm. Lett.* 63(17), 237-243, 1998 4. Fidler, I. *Cancer Res.* 38, 2651-2660, 1978. Apoio Financeiro: : CNPq, FAPEMIG e CAPES.

## 09.015

Cytotoxic effects of cordiaquinones from *Cordia leucocephala* in human cancer cells lines. Marinho-Filho, J. D. B.<sup>1</sup>; Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Diniz, J. C.<sup>2</sup>; Viana, F. A.<sup>3</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>3</sup>; Silveira, E. R.<sup>4</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Lotufo, L. V.<sup>5</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UERN - Química; <sup>3</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>4</sup>UFC - Química; <sup>5</sup>UFC - Oncologia Experimental

**Introduction:** *Cordia leucocephala* Moric, popularly known as “Maria-preta”, is a native plant from caatinga used in folk medicine to treat several diseases. The plant is used in infuse or decoct against rheumatism, indigestion, and general tonic. **Objective:** The aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of three cordiaquinones (CLR03, CLR04 and CLR05) isolated from the extract obtained from the roots of *C. leucocephala* and identified based <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectra. **Methods:** The cytotoxicity of cordiaquinones was tested against HL-60 (leukemia), MDA-MB-435 (melanoma), SF-295 (brain), and HCT-8 (colon) human cancer cell lines by MTT assay. The inhibition of proliferation was also determined by trypan blue dye exclusion assay and DNA synthesis, based on the reduction of BrdU incorporation, using HL-60 as model. To further investigate the mechanisms involved in the cytotoxic activity, the effect of cordiaquinones on the differential morphology were also analyzed through hematoxylin-eosin and acridine orange/ethidium bromide (AO/EB) staining of treated cells. **Results and Discussion:** Cordiaquinone CLR03 displayed the strongest cytotoxic effect when compared with CLR04 and CLR05, showing IC<sub>50</sub> values in the range of 0.89 to 2.13 µg/mL while the other samples presented IC<sub>50</sub> values in the range of 2.85 to 3.05µg/mL to CLR04 and 4.13 to 7.96 to CLR05 in HL-60 and SF-295, respectively. At both tested concentrations (0.5, and 1.0 µg/mL), the cordiaquinones reduced cell viability as analyzed by the trypan blue exclusion assay, however it only caused significant increase in the number of non-viable cells in higher concentration. The CLR03 inhibited DNA synthesis by 66.0 %, and 87.1 %, while the CLR04 inhibited by 26.73 % and 37.26 % and the CLR05 inhibited by 30.5 % and 27.04 % at the concentrations of 0.5 and 1.0 µg/mL, respectively. Morphological changes comparable to apoptosis were observed. **Conclusion:** Our findings suggest that CLR03 reduce tumor cell proliferation, triggering apoptosis in HL-60 cells. Supported by: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute.

## 09.016

Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-O-methyl derivative. Montenegro, R. C.<sup>1</sup>; Araújo, A. J.<sup>1</sup>; Marinho-Filho, J. D. B.<sup>1</sup>; Rocha, D. D.<sup>1</sup>; Molina, M. T.<sup>2</sup>; Montero, E. L.<sup>2</sup>; Goulart, M. O. F.<sup>3</sup>; Alves, A. P. N. N.<sup>4</sup>; Pessoa, C. O.<sup>5</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Lotufo, L. V.<sup>8</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>CSIC - Instituto de Química Médica; <sup>3</sup>UFAL - Química e Biotecnologia; <sup>4</sup>UFC - Clínica Odontológica; <sup>5</sup>UFC - Oncologia Experimental

**Introduction:** Quinones are widely distributed in the nature. Many drugs which are used clinically in the therapy of solid tumors contain a quinone moiety. This moiety is well-known to have anticancer properties, although its exact mechanisms are still unclear. The aim of this work was to evaluate the cytotoxicity of juglone and its 5-O-methyl derivative. **Methodology:** The compounds (0.01-5 µg/mL) were tested against: HL-60 (leukemia), MDA/MB-435 (melanoma), HCT-8 (colon), SF-295 (brain) human cancer cell lines and peripheral blood mononuclear cells (PBMC), using the MTT assay, after 72h of incubation. Cell growth was quantified by the ability of living cells to reduce MTT to a blue formazan product. To perform the hemolytic assay, a 2% mouse erythrocyte suspension was used. After incubation for 1h with compounds (0.78-200 µg/mL), the supernatant containing hemoglobin was measured at 540 nm. To further understanding the mechanism underlying the cytotoxicity of 5-methoxy-1,4-naphthoquinone, studies involving DNA fragmentation, cell cycle analysis, phosphatidyl serine externalization and mitochondrial depolarization were performed in HL-60 cell line, using doxorubicin as a positive control. **Results:** 5-Methoxy-1,4-naphthoquinone was more active than juglone, displaying cytotoxicity against all cancer cell lines tested, showing IC<sub>50</sub> values in the range of 0.31 (1.66 mM) in HL-60 up to 0.88 (4.7 mM) mg/mL in SF-295, despite lack of selectivity, as showed by IC<sub>50</sub> of 0.69 mg/mL (3.7 mM) against PBMC. Upon assays with 2% mouse erythrocyte suspension it was observed that the cytotoxicity of quinones is not related to membrane disruption. The results suggest that the cytotoxic 5-methoxy-1,4-naphthoquinone induces apoptosis. **Discussion and Conclusion:** Drugs containing a quinone moiety like lapachol show excellent anticancer activity. Present results corroborate with these observations since IC<sub>50</sub> ranged from 1.66 mM up to 4.7 mM. Absence of lytic effects suggests that the mechanism of cytotoxicity of the substances is not related with membrane disruption and the cytotoxic of the 5-methoxy-1,4-naphthoquinone is related to apoptosis, probably by an extrinsic pathway. These findings point to the potential of these synthetic quinones as model molecules to produce new compounds with anticancer properties. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, CNPq/Neoplasias, IM-INOFAR, FUNCAP, FINEP e InCb.



## 09.017

Antiproliferative effects of three derivatives from  $\alpha$ -santonin. Ferreira, J. R. O.<sup>1</sup>; Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Arantes, F. F. P.<sup>2</sup>; Barbosa, Luiz, C.<sup>2</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFV - Química

**Introduction:** Several sesquiterpene lactones have received considerable attention in pharmacological research due to their potent anti-neoplastic and anti-inflammatory activities. Santonin, a sesquiterpene lactones, is commonly found in plants belonging to Compositae. The aim of the present work was to determine the antiproliferative effect of three derivatives from  $\alpha$ -Santonin: 3-oxo-7 $\alpha$ H, 6bH-eudesma-1,4,11-trien-6,12-olide (**1**), 11,13-dehydrolumissantonin (**2**) and 10 $\alpha$ -acetoxi-3-oxo-1,7 $\alpha$ H,6bH-guai-4,11-dien-6,12-olide (**3**) against HL-60 (human leukemia) cells and peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Methods:** PBMC were isolated from heparinized blood from healthy donors and the Alamar Blue assay was performed. In order to investigate the selectivity of  $\alpha$ -Santonin derivatives towards cancer cells the cytotoxic potential against HL-60 cells was assessed by the MTT assay. For cytotoxic assays, HL-60 cells were treated with compounds for 72 h at a concentration range of 0.009 - 5  $\mu$ g/mL. To study the mechanism of action towards HL-60, cells were treated with 1, 2 and 3 at 1 and 2  $\mu$ m. For the incorporation of the nucleotide BrdU was accessed by direct peroxidase immunocytochemistry in treated and untreated cells. The morphological features (apoptosis and necrosis) of treated cells were investigated using acridine orange/ ethidium bromide staining for fluorescent microscopy. Evaluation of BrdU positivity was performed by light microscopy. Doxorubicin (0.5  $\mu$ M) was used as positive control. Further experiments BrdU assay and morphological examination, HL60 cells were incubated with tested compounds (1 and 2  $\mu$ M) for 24 h **Results and discussion:** All compounds demonstrated high cytotoxic activity in HL-60 cells displaying IC<sub>50</sub> of 1,14 (0,2-2,7), 2,30 (1,8-2,8) e 1,6 (1,0-2,3) e 0,04(0,03-0,05) $\mu$ M for the compound 1, 2, 3 and doxorubicin, respectively. Both compounds reduced the number of viable cells without increase in the number of non-viable cells. Which corroborate the findings of morphologic analysis showing an increase in the number of apoptosis cells in acridine orange assay, without increase in the number of necrosis cells. The cytotoxic activity of compound 3, at highest concentrations was related to the inhibition of DNA synthesis, as revealed by the reduction of BrdU incorporation. In the alamar blue assay IC50 were of 3.24 (1.6-5.3), 16.77 (7.3-36.8), 10.75 (4.6-23.3) and 1,66 (0.8-3.1)  $\mu$ M for the compound 1, 2, 3 and doxorubicin respectively. **Conclusion:** These findings suggest that these compounds exhibit high cytotoxic potential, where the cytotoxicity of the compound 3 is involved with the inhibition of DNA synthesis. Further studies sought a better understanding of the mechanism of action of compounds. Apoio Financeiro: CNPq, FUNCAP, CAPES, InCB

## 09.018

Cytotoxicity screening of novel lapachone derivatives. Cavalcanti, B. C.<sup>1</sup>; Júnior, E. N. J.<sup>2</sup>; Andrade, C. K. Z.<sup>2</sup>; Pinto, A. V.<sup>3</sup>; Pinto, M. C. F. R.<sup>4</sup>; Lotufo, L. V.<sup>5</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>6</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UnB - Química; <sup>3</sup>UFRJ - Química; <sup>4</sup>UFF - Química Orgânica; <sup>5</sup>UFC - Oncologia Experimental; <sup>6</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia

**Introduction:** In our program aiming the discovery and development of new anticancer agents, structural modifications of nor-b-lapachone seemed to be a very efficient approach to the obtainition of new prototypes. **Objective:** The aim of the present work was to determine the antiproliferative effects of nine novel nor-b-lapachone derivatives against different human cancer cell lines (HL-60 leukemia, SF295 glioblastoma, HCT-8 colon and MDA-MB435 melanoma), and in order to determine whether the active compounds acted through membrane disruption, nor-b-lapachone derivatives were tested for its ability to induce lysis in mouse erythrocytes. For comparison between structure/activity, the cytotoxicity of nor-b-lapachone was evaluated. **Methods:** The cytotoxic potential of 9 compounds against tumor cells was assessed by MTT test. Cells were treated with compounds (0.009 to 5 µg/mL) for 72 h. Cancer cell growth was quantified by the ability of living cell to reduce the MTT to a purple formazan product. Drug effect was quantified as the percentage of control absorbance of reduced dye at 595 nm. The hemolytic test was performed using a 2% suspension of mouse erythrocytes. Compounds (0.39 to 50 µg/mL) were incubated at room temperature for 1 hour. The hemoglobin released was measured spectrophotometrically as absorbance at 540 nM. Triton-X-100 was used as a positive control. **Results and Discussion:** Out of nine compounds tested were highly active showing IC<sub>50</sub> below 1 µg/mL. Interestingly, all compounds were more active against melanoma cell line with IC<sub>50</sub> in the range of 0.09 up to 1.08 µg/mL. Similar data were obtained with nor-b-lapachone. Only one compound showed IC<sub>50</sub> higher than 5µg/mL in all cell line tested. None of the compounds was able to cause hemolytic (EC<sub>50</sub> >50 µg/mL), suggesting that the cytotoxicity of these substances is probably related to a more specific pathway. Recently we showed that the presence of a nitro group is important for anticancer activity. Interestingly, the compound substituted by a nitro and a fluor group have more activity than the one substituted with only the nitro group. Also, compounds substituted by oxygen in the carbon C-3 have high activity. The results herein, suggests that changes in nor-b-lapachone may provide leads for the development of potential novel agent. Apoio Financeiro: CNPq, FUNCAP, UnB, UFRJ and Claude Bernard Institute

## 09.019

Cytotoxic activity of novel isobenzofuranones from anacardic acids. Cavalcanti, B. C.<sup>1</sup>; Ferreira, J. R. O.<sup>1</sup>; Santos, CO<sup>2</sup>; Romeiro, L. A. S.<sup>3</sup>; Santos, M. L.<sup>2</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UnB - Química; <sup>3</sup>UCB - Núcleo de Química Bioorgânica e Medicinal

**Introduction:** Anacardic acids are reported to exhibit a variety of biological activities, and also have stimulated much research in order to prepare drug analogues for application in several fields. **Objective:** The aim of the present work was to determine the antiproliferative effects of two novel synthetic isobenzofuranones, 4-(1-hydroxy-ethyl)-8-methoxy-isochroman-1-one (**1**) and 8-methoxy-4-tetradecanoyl-isochroman-1-one (**2**), designed from natural anacardic acids (*Anacardium occidentale*), on different human cancer cell lines (HL-60 leukemia, SF295 glioblastoma and MDA-MB435 melanoma), and in peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Methods:** PBMC were isolated from heparanized blood from healthy donors by Histopaque-1077. The cytotoxic potential of compounds against tumor cells was assessed by MTT test, and in order to investigate the selectivity of these isobenzofuranones toward a normal proliferating cell, the Alamar Blue assay was performed with PBMC. For both cytotoxic tests, cells were treated with compounds for 72 h to a concentrations range of 0.39 to 25 µg/mL, and doxorubicin was used as positive control. **Results and Discussion:** Compound **1** exhibited a low activity against HL60 (IC<sub>50</sub> 21.00 µg/mL) and SF295 (IC<sub>50</sub> >25 µg/mL) cells, and moderate activity against MDA-MB435 (IC<sub>50</sub> 12.27 µg/mL) cells. On the other hand, compound **2** exhibited a significant cytotoxic potential against HL60 cells (IC<sub>50</sub> 3.24 µg/mL) and moderate activity on SF295 (IC<sub>50</sub> 10.09 µg/mL) and MDA-MB435 (IC<sub>50</sub> 8.70 µg/mL) cell lines. Doxorubicin strongly inhibited the proliferation of all three tested cancer cell lines with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.02 to 0.04 µg/mL. The two novel isobenzofuranones exhibited a weak activity against PBMC (IC<sub>50</sub> >20 µg/mL), while doxorubicin displayed a potent antiproliferative effect on PBMC (IC<sub>50</sub> 0.96 µg/mL). These findings suggest that the ketone group at the benzylic position play an important role in assisting differential cytotoxic profile of **2**, which can be considered satisfactory leads that warrant further studies as antineoplastic drugs. Apoio Financeiro: CNPq, FUNCAP and Claude Bernard Institut

## 09.020

Arylamino derivative of nor-b-lapachone induces apoptosis in HL60 cell line. Araújo, A. J.<sup>1</sup>; Marinho-Filho, J. D. B.<sup>1</sup>; MOURA, M. A. B. F.<sup>2</sup>; Goulart, M. O. F.<sup>2</sup>; Silva-Junior, E. N.<sup>3</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Ferreira, V. F.<sup>3</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFAL - Química; <sup>3</sup>UFF - Química Orgânica

**Introduction:** Quinones play a pivotal role in energy metabolism and in many other key processes mainly in chemotherapy where redox cycling drugs are utilized. Many efficient antineoplastic drugs are quinone derivatives. The aim of this work was to evaluate the cytotoxicity of nor-b-lapachone and its arylamino derivative, 2,2-Dimethyl-3-(3-nitro-phenylamino)-2,3-dihydro-naphtho[1,2-b]furan-4,5-dione. **Methodology:** The compounds (0.01-5 µg/mL) were tested against six cancer cell lines: HL-60 (leukemia), MDA/MB-435 (melanoma), HCT-8 (colon), SF-295 (brain), L929 (fibroblast), PC3 (prostate) human cancer cell lines and B16 (melanoma murine), using MTT assay, after 72 hours of incubation. Cell growth was quantified by the ability of living cells to reduce MTT to a blue formazan product. To perform the hemolytic assay, a 2% mouse erythrocyte suspension was used. After incubation for 1h with compounds (0.78-200 µg/mL), the supernatant containing hemoglobin was measured at 540 nm. To further understand the mechanism underlying the cytotoxicity of nor-b-lapachone and its derivative, differential morphology tests with hematoxylin-eosin and acridine orange/ethidium bromide staining, DNA fragmentation, cell cycle and mitochondrial depolarization analyses were performed using HL-60 cells as a model. **Results and Discussion:** Nor-b-lapachone and its nitroaniline derivative were cytotoxic against all cancer cell lines tested, showing IC<sub>50</sub> values in the range from 0.63 in MDA-MB-435 up to 1.76 mM in HCT-8 and 0.31 in MDA-MB-435 up to 5.61 mM in PC3, respectively. HL-60 cells treated with nor-b-lapachone derivative at 2 mM, but not at 0.5 and 1 mM, reduced cell viability as demonstrated by the trypan blue exclusion assay, cause DNA fragmentation and mitochondrial depolarization, however, no difference from untreated cell was observed when cells were treated with nor-b-lapachone with both doses. Also, differential morphology staining indicates that nor-b-lapachone derivative induces apoptosis in HL-60 cells. No lytic effects were observed. Quinone moieties are present in many drugs which are used clinically in the therapy of solid cancers. Our results corroborate with these observations since IC<sub>50</sub> values ranged from 0.31 up to 5.61 mM and suggest that a 3-nitro-phenylamino substitution at position 3 of the furane ring enhances the cytotoxicity of nor-b-lapachone in HL-60 cell line. These findings point to the potential of these synthetic quinones as model molecules to produce new compounds with anticancer properties. Apoio Financeiro: CNPq, IM/INOFAR, CAPES, CNPq/Neoplasias, FUNCAP, FINEP and InCb.

## 09.021

Avaliação da atividade anticâncer de frações obtidas a partir da purificação dos extratos brutos das linhagens CBMAI 305 e CBMAI 310 de *Chromobacterium* sp. Silva, B. P.<sup>1</sup>; Menezes, C. B. A.<sup>2</sup>; Ruiz, A. L.<sup>3</sup>; Carvalho, J. E.<sup>4</sup>; Garboggini, F. F.<sup>5</sup>; Foglio, M.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>CPQBA/UNICAMP - Fitoquímica; <sup>2</sup>CPQBA/UNICAMP - Recursos Microbianos; <sup>3</sup>UNICAMP-CPQBA - Farmacologia; <sup>4</sup>UNICAMP - CPQBA; <sup>5</sup>UNICAMP-CPQBA - Recursos Microbianos

**Introdução:** Com mais de 10 milhões de novos casos por ano, o câncer se tornou uma das doenças mais devastadoras no mundo todo sendo responsável por 13% do total de mortes. Apesar dos tratamentos existentes, os resultados ainda são insatisfatórios e o câncer se tornou a principal causa de morte no mundo, mostrando a necessidade de se desenvolver novas drogas anticâncer<sup>1</sup>. Nas últimas décadas, a busca por princípios bioativos derivados de microrganismos tem sido uma das áreas em que mais se investe nos países desenvolvidos, principalmente nas pesquisas de bioprospecção realizadas pelas indústrias farmacêuticas devido principalmente a capacidade desses organismos de produzirem uma grande diversidade de micromoléculas bioativas<sup>2</sup>. Os avanços obtidos no campo da biotecnologia, aliado ao emprego de técnicas modernas de fracionamento químico, têm revelado o enorme potencial dos fungos e das bactérias em fornecerem substâncias ativas com padrões moleculares novos e originais<sup>2,3</sup>. A violaceína, um pigmento roxo extraído da *Chromobacterium violaceum*, demonstrou ser capaz de induzir apoptose em culturas de células do câncer<sup>4</sup>. Além disso, estudos anteriores realizados no CPQBA com os extratos brutos obtidos através de 18 linhagens de *Chromobacterium* sp provaram ter atividade anticâncer *in vitro* em diversas linhagens de células tumorais humanas. Com isso, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial anticâncer de frações obtidas a partir dos extratos brutos das linhagens CBMAI 305 e CBMAI 310 da *Chromobacterium* sp a fim de identificar as frações envolvidas com a atividade anticâncer *in vitro* para posterior isolamento e identificação dos compostos bioativos dessas frações. **Metodologia:** Os extratos brutos de *Chromobacterium* foram obtidos por sistema de soxhlet a partir das células bacterianas (linhagens CBMAI\*305 e 310) e purificados por cromatografia em coluna de sílica-gel na proporção de 1 g de amostra para 30 g de sílica. **Resultados e Discussão:** A purificação dos extratos brutos resultou em frações potentes, seletivas e frações que não apresentaram atividade anticâncer. A fração H obtida pela purificação do extrato bruto etanólico da CBMAI 310 merece destaque, pois além de seletiva para a linhagem NCI-ADR (ovário resistente a múltiplas drogas padrões), também foi extremamente potente para essa mesma linhagem (TGI=0,22), sendo, portanto promissora para futuros estudos. \*Coleção Brasileira de Microrganismos Ambientais e Industriais. 1. Stewart BW, *World Cancer Report* (2003); 2. Pinto AC *et al*, *Quim. Nova* 25: 45 (2002); 3. Newman DJ *et al*, *J.Nat. Prod.* 70: 461 (2007) ; 4. Carvalho, DD *et al*, *Toxicol. in Vitro*, 20:1514 (2006); Apoio Financeiro: Fapesp

**09.022**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

**09.023**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.024

Endothelium-dependent vasorelaxation induced by aqueous extract of jaboticaba (*Myrciaria sp*) fruit in rat aorta. Orlandi, J. M. S.<sup>1</sup>; Rezende, B. A.<sup>1</sup>; Lemos, V. S.<sup>2</sup>; Ferreira-Alves, D. L.<sup>1</sup>; Côrtes, S. F.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Fisiologia e Biofísica

**Introdução:** A literatura tem mostrado o uso terapêutico de misturas enzimáticas, contendo papaína, tripsina e quimiotripsina, atuando na clínica como supressores tumorigênicos<sup>1</sup>. Resultados prévios com P1G10, fração rica em cisteíno proteases obtida por cromatografia de exclusão do látex de *C. candamarcensis*, mostram uma significativa redução da massa de melanomas B16F1, assim como do número de animais com metástases e pontos de metástases de melanomas B16F10. Frente à potencial ação antitumoral da fração, temos por objetivo avaliar sua atividade em um modelo tumoral com características celulares diferentes do modelo anterior, o carcinoma de Ehrlich. **Métodos:** Para avaliação da atividade antitumoral, camundongos Swiss machos (35-40 g; n=40) foram inoculados *i.p.* com  $10^7$  células de tumor de mama de Ehrlich provenientes de um camundongo doador. P1G10 foi administrada diariamente nas doses de 1, 3 e 5 mg/kg por via s. c., durante 10 dias, a partir do terceiro dia após a inoculação das células. Os animais foram pesados a cada 72 h e no 11º dia foi realizada punção do líquido ascítico para contagem do número de células. Como possível mecanismo de ação, foi avaliada a atividade antiangiogênica da fração. Para isso, discos de esponja foram implantados em camundongos Swiss (n=32) portadores ou não de tumor de Ehrlich sólido. Após implante, os animais foram tratados diariamente com salina ou P1G10 (*i.p.*, 1 mg/kg) por 9 dias. Após sacrifício, os implantes foram removidos e a hemoglobina (Hb) foi quantificada. **Resultados e Discussão:** P1G10 (5 mg/kg) foi capaz de reduzir significativamente a celularidade presente no líquido ascítico ( $6,3 \pm 1,7 \times 10^7$  cel/ml,  $p < 0,05$ , ANOVA, pós teste Dunnett) em comparação com o grupo controle ( $10,6 \pm 3,0 \times 10^7$  cel/ml). Observou-se, também, um ganho de peso dos animais tratados com P1G10 em todas as doses, porém não estatisticamente significante. Nos animais sem tumor, a administração de P1G10 promoveu um aumento da vascularização do implante da ordem de 54% ( $3,3 \pm 0,4$  µgHb/mg) em relação ao controle ( $2,1 \pm 0,1$  µgHb/mg). Entretanto, na presença da massa tumoral, a concentração de Hb na esponja do grupo tratado com a fração foi de  $0,5 \pm 0,1$  µgHb/mg, 78% menor que o controle ( $2,2 \pm 0,4$  µgHb/mg). Dessa maneira, P1G10 se mostra capaz de inibir o crescimento tumoral do carcinoma ascítico de Ehrlich, possivelmente, com a participação da liberação de fatores antiangiogênicos e concomitante melhora do estado geral do animal. **Referência:** 1. Leipner J. *Drugs*, v.59, p.769, 2006. Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG e CAPES.



## 09.025

Screening of new  $\alpha$ - and  $\beta$ -lapachone derivatives for cytotoxicity in cancer cell lines. Santos, E. A.<sup>1</sup>; Araújo, A. J.<sup>1</sup>; Ferreira, S. B.<sup>2</sup>; Pessoa, C. O.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Kaiser, C. R.<sup>2</sup>; Ferreira, V. F.<sup>3</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFRJ - Química Orgânica; <sup>3</sup>UFF - Química Orgânica

**Introduction:** Quinones have been a good source of active compounds being a good prototype for drug design. The aim of this study was to analyze the biological activity of these compounds for their antiproliferative activity in cancer cell lines, and the hemolytic activity in mice erythrocytes. **Methodology:** 12 compounds (0.01-5 $\mu$ g/mL) were tested against four human cancer cell lines: HL-60 (leukemia), MDA/MB-435 (melanoma), HCT-8 (colon) and SF-295 (brain), using MTT assay, after 72 hours of incubation. Cell growth was quantified by the ability of living cells to reduce MTT to a blue formazan product. To perform the hemolytic assay, it was used a 2% mouse erythrocyte suspension and cells were exposed for 1h with compounds (1.95-250 $\mu$ g/mL). The supernatant containing hemoglobin was measured at 540 nm. **Results and Discussion:** All  $\beta$ -lapachone derivatives displayed high cytotoxic effect showing IC<sub>50</sub> values in the range of 0.15 to 2.77  $\mu$ g/mL in MDA-MB435 and HCT-8, respectively. In the contrary,  $\alpha$ -lapachone derivatives showed IC<sub>50</sub> values in the range of 1.22 and over 5 $\mu$ g/mL in MDA-MB 435 and in the most of cancer cell lines. Only one  $\alpha$ -lapachone derivate displayed high cytotoxicity with IC<sub>50</sub> of 0.37 $\mu$ g/mL in MDA-MB 435. None of the compounds caused membrane disruption in mouse erythrocytes. The  $\beta$ -lapachone derivatives were the most active compound. Our findings indicated that the possible mechanisms underlying cytotoxicity are not related to membrane disruption, suggesting a more specific mechanism of antiproliferative activity. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, InCb, CNPq-Neoplasia

## 09.026

Atividade citotóxica de extratos de *Ormosia arborea* sobre células do tumor ascítico de Ehrlich *in vitro*. Brito, V. H. S.<sup>1</sup>; Negrete, C. L.<sup>2</sup>; Mariano, Y. Y.<sup>2</sup>; Tomazoni, E.<sup>2</sup>; Yano, M.<sup>3</sup>; Cereda, M. P.<sup>4</sup>; Moreno, S. E.<sup>5</sup> – <sup>1</sup>UCDB – Biologia; <sup>2</sup>UCDB – Farmácia; <sup>3</sup>UCDB - Farmácia, <sup>4</sup> UCDB - Biotecnologia; <sup>5</sup>UCDB - Biologia

**Introdução:** É uma espécie pertencente a família Leguminosae, conhecida popularmente, como olho-de-boi, é bastante recomendada para os plantios destinados à recuperação de áreas degradadas e apresenta grande importância em projetos ornamentais e artesanais de ruas e praças devido a sua beleza, além do uso em confecções de bijuterias. Este gênero é reconhecido principalmente pela presença principalmente de alcalóides do tipo quinolizidínicos. Há descrições nas literaturas sobre estudos químicos das cascas das raízes, onde foram isolados isoflavonóides, além da substância 2,3-diidroauriculatina que apresentou uma atividade moderada frente aos microorganismos orais. **Objetivos:** avaliar o efeito citotóxico dos extratos brutos etanólicos de galhos, de albúmen e de folhas de *Ormosia arborea* em células do tumor ascítico de Ehrlich *in vitro*. **Métodos:** As espécies coletadas estão registradas no Herbário de Mato Grosso do Sul (HMS), secos em estufa apropriada, moídas e pesadas para a extração de galhos, do albúmen e das folhas foram preparados os extratos brutos etanólicos por meio de maceração estática, utilizando como solvente, o etanol (extrato bruto etanólico de galhos, extrato bruto etanólico de albúmen e o extrato bruto etanólico de folhas). Após as extrações, foi submetido a filtração e evaporação, para em seguida, a avaliação do efeito citotóxico. Os extratos foram solubilizados com Dimetilsulfóxido e a avaliação foi realizada em suspensão celular obtida do tumor ( $1 \times 10^5$  células viáveis/ml), que foi cultivada em meio de cultura a 5% de Soro Fetal Bovino. Os tratamentos receberam doses crescentes de 1, 5 e 10% dos extratos e como controle negativo à suspensão celular, foi incubada com 10% de DMSO. Após 1 e 3 horas, foram coletadas amostras das suspensões para a análise da viabilidade celular por meio do teste de exclusão, corados com azul de Trypan. **Resultados e Discussão:** com a análise dos resultados, não foram evidenciadas diferenças na potência dos extratos, após a primeira hora de incubação. O EBEG induziu perda da viabilidade celular cerca de 68%, o EBEA apresentou uma redução de 65% e o EBEF 64%. Após a terceira hora de tratamento, todos os grupos com tratamento, apresentaram cerca de 90% de perda da viabilidade celular, enquanto o grupo de células não tratadas, apresentou cerca de 96% de células viáveis. **Conclusão:** estes resultados demonstram que os extratos são providos de importante ação citotóxica com efeito tempo-dependente, entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações utilizadas, pois o efeito  $IC_{50}$  foi obtido na concentração de 1%. Apoio Financeiro: PIBIC e UCDB

## 09.027

Withaphysalins as an emerging class of new anticancer compounds. Rocha, D. D.<sup>1</sup>; Maia, A. I. V.<sup>2</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>2</sup>; Silveira, E. R.<sup>2</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica

**Introduction:** Withaphysalins are C28-steroidal lactones structurally based on the ergostane skeleton commonly found in Solanaceae species. Herein it's reported the effects, against cancer cells, of four withaphysalins (O, F, M and N) isolated from *Acnistus arborescens*, a plant from the northeastern Brazil flora. **Methods:** In the first part of this study, it was determined the viability and growth curves of HL-60 treated cells, using trypan blue exclusion assay. Then, the morphological alterations, the capacity of DNA synthesis inhibition and the induction of caspase-3 activation were analyzed. Finally, it was performed the analyzes of cell membrane integrity, cell cycle distribution, DNA fragmentation and the mitochondria membrane potential using flow cytometry. The microtubules morphology of treated cells was accessed by immunofluorescence with confocal analysis. DMSO and doxorubicin (0.3 µg/mL) were used as negative and positive controls, respectively. *In vivo* studies were performed in animals bearing sarcoma 180 tumor. **Results:** In the viability assay, all withaphysalins reduced the number of viable cells in a dose-and time-dependent fashion, with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.7 to 3.5 µM after 72 h of incubation. In addition, the withaphysalins decreased DNA synthesis after 24 h exposure, and morphological analysis of treated cells indicated the presence of apoptotic and necrotic cells for all tested compounds. In the flow cytometry experiments, withaphysalins O and F, only at concentration of 5 µg/mL, reduced the number of viable cells to 60 and 40% respectively. In the cell cycle analysis, both withaphysalins led to a cell cycle arrest at G2/M, at the concentration of 2.5µg/mL. Cells treated with both withaphysalins also showed a significant increase in DNA fragmentation when compared to the negative control. Results of the mitochondria transmembrane potential showed that depolarization changes in accordance to the tested concentration (1, 2.5 and 5µg/mL) with 4.7, 17.5 and 9.1% for withaphysalin O and 7.6, 16.6 and 5.6% for withaphysalin F. Confocal analysis suggests that microtubules are the primary target of whitaphysalins. *In vivo* studies confirmed the anticancer potential of whitaphysalins. **Conclusion:** Withaphysalins showed cytotoxic and antitumor effects in cancer cells associated with microtubules alteration and cell cycle arrest at G2/M followed by apoptosis. Taking in account all these data, it can be concluded that withaphysalins can be seen as an emerging class of new anticancer compounds. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FUNCAP, FINEP, InCB,

## 09.028

The relaxant effect induced by rotundifolone involves L-Type  $\text{Ca}_v$  channels inactivation in vascular smooth muscle cells. Silva, D. F.<sup>1</sup>; Albuquerque, J. G. F.<sup>2</sup>; Araújo, I. G. A.<sup>2</sup>; Porto, D. L.<sup>3</sup>; Dias, K. L. G.<sup>2</sup>; Cavalcante, K. V. M.<sup>2</sup>; Veras, R. C.<sup>2</sup>; Nunes, X. P.<sup>2</sup>; Barbosa Filho, J. M.<sup>2</sup>; Araújo, D. A. M.<sup>4</sup>; Cruz, J. S.<sup>5</sup>; Correia, N. A.<sup>6</sup>; Medeiros, I. A.<sup>4</sup> - <sup>1</sup>UFPB - Fisiologia e Patologia; <sup>2</sup>UFPB-LTF; <sup>3</sup>UFRN-NUPLAN; <sup>4</sup>UFPB - Biologia Molecular; <sup>5</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia; <sup>6</sup>UFPB - Fisiologia e Patologia

**Introduction:** Rotundifolone, a ketone monoterpenic, is an important chemical constituent of the essential oil of many *Mentha* species (*Mentha rotundifolia*, *M. suaveolens*, *M. spicata* L., *M. longifolia*, and *M. x villosa*). Rotundifolone is the major constituent (63.5%) of the essential oil of *Mentha x villosa* Hudson (Lamiaceae), which also contains 23 other minor constituents. In preliminary pharmacological studies, rotundifolone induced significant hypotensive, bradycardic and vasorelaxant effects in non-anesthetized normotensive and spontaneously hypertensive Lyon rats. The aim of this study was to characterize the molecular mechanism of action involved in the smooth muscle relaxation produced by rotundifolone, emphasizing the participation of  $\text{Ca}^{2+}$  influx. **Methods:** The relaxant effect of rotundifolone was investigated in normotensive rats by using *in vitro* tension measurements and whole cell patch-clamp techniques. **Results:** In phenylephrine (0.1-10 mM) or KCL (80 mM) pre-contracted mesenteric rings without functional endothelium, increasing concentrations of rotundifolone ( $10^{-7}$  –  $3 \times 10^{-3}$  M) induced a concentration-dependent relaxation. In depolarizing nominally without  $\text{Ca}^{2+}$  medium, rotundifolone ( $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  and  $3 \times 10^{-3}$  M) inhibited the vasoconstriction induced by  $\text{CaCl}_2$  ( $10^{-6}$  –  $3 \times 10^{-2}$  M) in a concentration-dependent manner. Furthermore, the monoterpene ( $10^{-7}$  –  $3 \times 10^{-3}$  M) antagonized the contractions elicited by the L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel agonist, S(-)-Bay K 8644, indicating that the vasodilatation relates to the inhibition of extracellular  $\text{Ca}^{2+}$  influx through L-type voltage-dependent calcium channels ( $\text{Ca}_v$  type-L). This hypothesis was confirmed in freshly dispersed rat mesenteric artery myocytes by using whole-cell patch clamp (current-measurements), where rotundifolone ( $10^{-4}$ ,  $3 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  and  $3 \times 10^{-3}$  M) significantly inhibited L-type  $\text{Ca}^{2+}$  currents ( $I_{\text{CaL}}$ ) similarly, at the end of the pulse as well as at the peak. Rotundifolone affected the voltage-dependent activation of  $I_{\text{CaL}}$  and markedly shifted the steady-state inactivation curve to the left. **Conclusion:** In conclusion, these results suggest that rotundifolone induce vasorelaxant effect in isolated rat mesenteric artery due to the inhibition of the  $\text{Ca}^{2+}$  influx via L-type  $\text{Ca}_v$  channels inactivation. Apoio Financeiro: CNPq and CAPES.

## 09.029

Rotundifolone probably induces TRP channels activation in rat mesenteric smooth muscle cells. Silva, D. F.<sup>1</sup>; Albuquerque, J. G. F.<sup>1</sup>; Araújo, I. G. A.<sup>1</sup>; Porto, D. L.<sup>3</sup>; Dias, K. L. G.<sup>1</sup>; Cavalcante, K. V. M.<sup>1</sup>; Nunes, X. P.<sup>1</sup>; Barbosa Filho, J. M.<sup>1</sup>; Cruz, J. S.<sup>2</sup>; Andrade, V. A.<sup>3</sup>; Leite, M. F.<sup>3</sup>; Correia, N. A.<sup>4</sup>; Medeiros, I. A.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPB-LTF - Ciências Farmacêuticas; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia; <sup>3</sup>UFMG Fisiologia e Biofísica; <sup>4</sup>UFPB - Fisiologia e Patologia

**Introduction:** Monoterpenes, such as camphor, menthol or rotundifolone, comprise a group of naturally occurring organic compounds derived from two isoprene units. Rotundifolone is the major constituent (63.5%) of the essential oil of *Mentha x villosa* Hudson, which also contains 23 other minor constituents. In preliminary pharmacological studies, rotundifolone induced significant hypotensive, bradycardic and vasorelaxant effect in non-anesthetized normotensive and spontaneously hypertensive Lyon rats. However, a number of monoterpenes have also been described as agonists or antagonists of different members of the transient receptor potential (TRP) channel family, which are non-selective cationic channels. The aim of this study was to investigate alterations of intracellular  $Ca^{2+}$  levels induced by rotundifolone in mesenteric arterial muscle cells, emphasizing TRP channels as a target for this monoterpenoid. **Methods:** TRP channels activation induced by rotundifolone was investigated by intracellular calcium concentrations ( $[Ca^{2+}]_i$ ) measurements using confocal laser scanning microscope and *in vitro* tension measurements. **Results:** After smooth muscle cell identification of mesenteric artery by immunofluorescence technique, rotundifolone ( $3 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  e  $3 \times 10^{-3} M$ ) increased the intracellular calcium concentration in rat mesenteric artery myocytes loaded with Fluo-4/AM (6mM) when compared to basal values of  $Ca^{2+}$ -fluorescence intensity. These effects were attenuated by EGTA (2 mM), ciclopiazonic acid (CPA - 20 mM) or capsazepine (CPZ - 20mM) and abolished by BAPTA-AM (50 mM), suggesting that increasing intracellular calcium concentration induced by rotundifolone seems to involve  $Ca^{2+}$  release from sarcoplasmatic reticulum and  $Ca^{2+}$  influx through TRP channels. In addition, TRP channels participation was evaluated in mesenteric artery rings by altering the temperature of the organ-baths from 37 to 25 or 18 °C. In these studies, rotundifolone potentiated the relaxant effect induced by temperature changes, suggesting that monoterpene seems to induce thermosensitive TRP channels activation. **Conclusion:** The results suggest that rotundifolone probably induces TRP channels activation and consequent  $[Ca^{2+}]_i$  increase in vascular smooth muscle cells. This effect seems to involve TRPM8 channels, but additional studies are necessary to clearly confirm this hypothesis. Apoio Financeiro: CNPq and CAPES.

### 09.030

*Combretum leprosum* fruit extract inhibits hemostasis alterations induced by *Bothrops* snake venom. Fernandes, F. F. A.<sup>1</sup>; El-Kik, C. Z.<sup>1</sup>; Facundo, V. A.<sup>2</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UNIR - Química

**Introduction:** In this work we evaluated the ability of *Combretum leprosum* fruit extract in inhibiting hemostasis alterations induced by *Bothrops* snake venom. The *Combretum* genus (Combretaceae) is distributed in Asia, Africa and Americas, including about 250 species, with cosmopolita distribution. It presents about 10% of its species with known ethnopharmacology use, mainly in the treatment of snakebites, cancer, leprosy, abdominal pain, tropical fevers, as cicatrizant agent and others. **Methods and Results:** We evaluated the inhibition of *Bothrops jararacussu* crude venom lethality. Also we tested the anti-hemorrhagic activity of the extract against *B. jararaca* (1 mg/kg) crude venom (Kondo & col., 1960). The clotting time was also evaluated by Lee-White modified method (Raphael, *Med. Lab. Technol.*, 4 ed, p742, 1983). We evaluated the inhibition of *Bothrops jararacussu* crude venom azocaseinolytic activity according with the method described by Garcia & col (1978) and the collagenase activity of the enzyme collagenase and *B. jararacussu* venom according Chavira e col (1984) modified method. The lethality induced by *B. jararacussu* crude venom (5 mg/kg) was reduced in a dose dependent way (30 – 300 mg/kg, i.p.), where the last protect 100% of the animals. The proteolytic and collagenase activities of *B. jararacussu* crude venom (10 mg/mL and 50 mg/mL, respectively), and the collagenase activity of collagenase enzyme (50 mg/mL) were inhibited by the extract in a concentration-dependent way (10-300 mg/mL), where 300 mg/mL abolished both activities of *B. jararacussu* venom and 50% of the collagenase enzymatic activity. The hemorrhage caused by *B. jararaca* (1 mg/kg) crude venom was also completely inhibited by the extract (100 mg/kg). **Conclusion:** These results suggest that the *C. leprosum* crude extract is able to inhibit some important activities from *Bothrops* venoms.

### 09.031

Avaliação da atividade hipolipidêmica de plantas medicinais do cerrado mato-grossense em camundongos com hiperlipidemia induzida por Triton WR 1339. Silva, M. A. B.; Melo, L. V. L.; Ribeiro, R. V.; Souza, J. P. M.; Oliveira, C. R.; Lima, J. C. S.; Martins, D. T. O.; Silva, R. M. FCM-UFMT

**Introdução:** As dislipidemias são anormalidades nos níveis de lipídeos sanguíneos de grande importância clínica, sendo consideradas como os principais fatores de risco nas doenças coronarianas e aterogênicas. A medicina popular pode fornecer informações valiosas sobre plantas medicinais eficazes no tratamento dessas síndromes metabólicas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade hipolipidêmica de plantas medicinais do cerrado mato-grossense em camundongos com hiperlipidemia induzida por Triton WR 1339, a partir de uma seleção das plantas por meio de um levantamento etnobotânico e bibliográfico em teses e dissertações realizadas na UFMT. **Métodos:** Foram testados os extratos brutos metanólicos das plantas: *Aspidosperma subincanum* (EBMAs), *Tabebuia impetiginosa* (EBMTi), *Tabebuia aurea* (EBMTa), *Strychnos pseudoquina* (EBMSp), *Vochysia rufa* (EBM Vr) e *Simaba ferruginea* (EBMSf). Camundongos (30–35g) foram tratados via oral com veículo, extratos das plantas em dose variando de 50 a 500 mg/kg ou Fenofibrato (200 mg/kg), 1h antes e 22h após a indução da hiperlipidemia pela injeção i.p. de Triton WR 1339 (Tiloxapol – 400 mg/kg). Após 2h do último tratamento, amostras de sangue foram coletadas através do plexo orbital e dosados os níveis de triglicérides, colesterol total e HDL pelo método Enzimático-Trinder e medidos através de um analisador bioquímico semi-automático, utilizando kits respectivos (Labtest®, Brasil).

**Resultados e discussão:** EBMSf (folha) e EBM Ta não apresentaram alterações significativas nos parâmetros bioquímicos analisados, entretanto, EBM Sp e EBM Ti nas doses de 100 e 250 mg/kg, respectivamente, reduziram significativamente os níveis de colesterol total em 17 e 21%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle veículo. EBMA s foi eficaz somente na redução do triglicérides obtendo diminuição de 41% na dose de 100 mg/kg. EBMSf (raiz) 100 mg/kg e EBM Vr 250 mg/kg além de reduzirem significativamente o colesterol total em 29 e 44% e o triglicérides em 61 e 36%, ainda promoveram aumento do colesterol HDL em 33 e 19% respectivamente, sendo, inclusive, mais eficazes que o Fenofibrato (5%) quando comparado ao controle. **Conclusão:** Os EBMSf (raiz) e EBM Vr apresentaram os melhores resultados na redução do colesterol total e triglicérides e no aumento do colesterol HDL, sugerindo uma possível atividade hipolipidêmica o que demonstra que o conhecimento popular é uma ferramenta útil no desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento de síndromes importantes como as dislipidemias. Novos ensaios farmacológicos são necessários para esclarecer o mecanismo de ação desses extratos e de seus constituintes químicos. Apoio Financeiro: CAPES, Centro de Pesquisa do Pantanal – CPP.

## 09.032

Cytotoxic activity and biological effects of 4-methoxyphenyl-3,4,5-trimethoxyphenylmetanone. Wilke, D. V.<sup>1</sup>; Magalhães, H. I. F.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup>; Rotta, R.<sup>2</sup>; Lima, D. P.<sup>2</sup>; Beatriz, A.<sup>2</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Pessoa, C. O.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFMS - Química

**Introduction** The design of inhibitors of tubulin polymerization is an attractive strategy for the development of compounds useful in cancer chemotherapy. Combretastatins are a class of antitubulin agents that bind in the colchicin binding site. Structurally related compounds such as phenstatins are in clinical trials for anticancer treatment showing great results. This study evaluated the cytotoxicity and biological effects of 4-methoxyphenyl-3,4,5-trimethoxyphenylmetanone (**1**). **Methods** The cytotoxicity of **1** was evaluated against a panel of 10 tumor cell lines, including melanoma, colon, leukemia, breast and lung by the MTT assay after 72 h incubation. The cellular effects were evaluated on HL-60 cells (leukemia) with increasing concentrations based on IC<sub>50</sub> after 24 h incubation. Morphological changes were observed by hematoxylin and eosin dying. The cell cycle and cell death patterns were acquired through several flow cytometry methodologies. **Results and Discussion:** **1** showed cytotoxicity against all tumor cell lines tested showing IC<sub>50</sub> values that ranged from 0.13 to 2.68 µM in HL-60 and PC-3 cells respectively. The morphological analysis indicates metaphase break and apoptosis on cells treated with **1** at 0.07, 0.15 and 0.3 µg/mL during 24 h incubation. At same conditions, cell cycle analysis revealed G2 arrest around 60% (p<0.05) on **1** treated cells, while untreated cells showed 10%. As suggested by morphological analysis, flow cytometry results also corroborated to apoptosis induction such as: 1- decreasing of mitochondrial potential; 2- DNA fragmentation; 3- none plasma membrane disruption; and 4- caspases 3, 7 and 8 activation, all features of apoptosis. In conclusion, this work demonstrated cytotoxic activity of **1** ranging from moderate to potent on a panel of 10 tumor cell lines, and its mechanistic study revealed mitotic block probably through tubulin binding following apoptosis induction. This study has important biological implications, because this is the first time that cellular effects of one phenstatin analogue are described. Apoio Financeiro: FINEP, CNPQ, InCB, CAPES and PROPP-UFMS.



### 09.033

Cytotoxic potential of guanidine alkaloids from the marine sponge *Monanchora arbuscula* collected at Pedra da Risca do Meio Marine State Park – CE. Ferreira, E. G.<sup>1</sup>; Jimenez, P. C.<sup>2</sup>; Oliveira, J. R.<sup>3</sup>; Hajdu, E.<sup>4</sup>; Pessoa, C.<sup>2</sup>; Moraes, M. O.<sup>2</sup>; Silveira, E. R.<sup>3</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>3</sup>; Costa-Lotuf, L. V.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; Ciências do Mar (LABOMAR); <sup>2</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>3</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>4</sup>UFRJ- Museu Nacional do Rio de Janeiro

**Introduction:** The biodiversity of the marine environment is a promising source of biologically active compounds with unique and impressive chemical structures. This study describes the isolation of guanidine alkaloids from *Monanchora arbuscula*, a marine sponge collected off the northeast coast of Brazil. **Methodology:** Specimens collection took place at the Pedra da Risca do Meio Marine State Park (A, 3° 33' 800" S e 38° 26' 000" O; B, 3° 36' 000" S e 38° 26' 000" O; C, 3° 36' 000" S e 38° 21' 600" O; D, 3° 33' 800" S e 38° 21' 600" O), off 10 nautical miles from the coast of Ceará State. The material was submitted to organic extraction followed by several chromatographic processes, yielding the guanidine alkaloids ptilocaulin (PT), 8β-hydroxyptilocaulin (8HPT), mirabilin B (MB) and an epimers mixture of 1,8a;8b,3a-didehydro-8β-hydroxyptilocaulina and 1,8a;8b,3a-didehydro-8α-hydroxyptilocaulin (MEPI). The compounds were tested for their hemolytic potential on *Mus musculus* mouse erythrocytes and antiproliferative activity on human tumor cell line (HL-60, HCT-8, MDAMB435 and SF-295), using the MTT assay. **Results and Discussion:** PT and 8HPT showed strong cytotoxicity towards the tumor cell lines, with an average of 1.8-fold greater potency of PT over 8HPT. Both compounds presented hemolytic activity, but in much higher concentrations than those found for the MTT assay. Although previously isolated from other sources, no information concerning biological activity of the guanidine alkaloid 8HPT was available. In previous studies, this relative specificity to melanoma e and leukemia lines by the compound PT was showed, and this specificity was thus observed in this study (Ruben *et al. Investigational New Drugs*. 7: 147, 1989). The compound MB did not show any cytotoxic activity in the cell models applied on this study, but antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* and antiprotozoal activity against *Leishmania donovani* had already reported (Hui-Ming *et al. Bioorg Med Chem*. 12: 6461, 2004). This same paper also identified the same epimeres mixture herein, and describes its antiprotozoal activity against *Plasmodium falciparum*. Apoio Financeiro: SUPPORT: CAPES, BNB/FUNDECI, CNPq and InCB.

#### 09.034

Cytotoxic activity of lactones isolated from *Lychnophora ericoides*. Costa, A. M.<sup>1</sup>; Militão, G. C. G.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Lopes, N. P.<sup>2</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>USP – Física e Química

**Introduction:** Goyazensolide (L1), lychnopholide (L2), Centraterin (L3), 4b,5-dihydro-15-deoxygoyazensolide (L4), Eremanthine (L5), 9,10-epoxy-eremanthine (L6), 15-acetoxy-erematholide B (L7), 16a-isopropenyl-4b,5H-eremanthanolide (L8) are sesquiterpene lactones isolated from *Lychnophora ericoides*. The purpose of the present work is to evaluate the cytotoxic potential of lactones in tumor cell lines and the mechanisms involved in the observed cytotoxicity using leukemia cells. Antiproliferative effect was accessed by MTT test after 72 h of incubation in HCT8, MDA MB 435, HL60, SF- 295 cell lines. **Methods:** The effect on cell viability was determined using the trypan exclusion assay, while DNA synthesis was measured by 5-bromo-2V-deoxyuridine (BrdU) incorporation. Morphology of leukemia cell was investigated using AO/EB staining. The IC<sub>50</sub> values ranged from 0.1 µg/mL to 0.3 µg/mL for L1, 0.3 µg/mL to 1.1 µg/mL for L2, 0.3 µg/mL to 0.8 µg/mL for L3, 1.6 µg/mL to 2.9 µg/mL for L4, 0.4 µg/mL to 0.6 µg/mL for L7, 2.1 µg/mL to 4.4 µg/mL for L6 and CI50 > 5 µg/mL for L5 and L8. The five most active compounds were selected for experiments that evaluated the mechanisms involved in cell death. Lactones L1, L2, L3 were tested at 0, 25 µg/mL while L4 and L7 were tested at 2, 5 µg/mL. **Results and discussion:** All lactones elicited a significant in cell viability and DNA synthesis in HL-60 cell line, but only compound 14 induced an enhancement of non-viable cells. After 24 h of incubation, all tested compounds reduced the number of viable cells and increased the number of apoptotic cells, except compound 2. The number of necrotic cells was enhanced only with compound 7, after 24h of incubation. These results highlighted the anticancer potential of these compounds. Financial Support: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute

### 09.035

Cytotoxicity screening of new  $\beta$ -lapachone derivatives and apoptosis induction in HL-60 cancer cell line. Araújo, A. J.<sup>1</sup>; Santos, E.A.<sup>1</sup>; Marinho-Filho, J. D. B.<sup>1</sup>; Ferreira, S. B.<sup>2</sup>; Pessoa, C. O.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Kaiser, C. R.<sup>2</sup>; Ferreira, V. F.<sup>3</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFRJ - Química Orgânica; <sup>3</sup>UFF - Química Orgânica

**Introduction:** Plants have been a prime source of highly effective drugs for the treatment of many types of cancer, however some compounds isolated from plants frequently may not serve as a drug, but they can provide leads for the development of potential novel agent. In this way, the aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of two halogenated quinones with chlorine (1) and fluoro atoms (3) on cancer cell lines derivated from a prototype of  $\beta$ -lapachone derivative without halogenated atoms (2). **Methods:** The cytotoxicity of all compounds was evaluated against HL-60 (leukemia), MDA-MB-435 (melanoma), SF-295 (brain), and HCT-8 (colon) human cancer cell lines by the MTT assay after 72 h incubation. The cellular effects were evaluated on HL-60 cells, after 24h exposure, with increasing concentrations based on IC<sub>50</sub>. Morphological changes were observed by May grunwald Giemsa. The cell cycle and cell death patterns were acquired through flow cytometry analysis, such membrane integrity, mitochondrial depolarization and the differential morphology with acridine orange/ethidium bromide (AO/EB) staining of treated cells. **Results and Discussion:** All compounds displayed high cytotoxic effect showing IC<sub>50</sub> values in the range of 0.52 to 6  $\mu$ M in MDA-MB435 and HCT-8, respectively. As for HL60 cell line, **1** showed IC<sub>50</sub> of 0.68  $\mu$ M, while **2** and **3** showed 0.96 and 2.7  $\mu$ M, respectively. After 24h treatment (0.25, 0.5 and 1  $\mu$ M), flow cytometry analysis demonstrated that only at 1  $\mu$ M, all compounds reduced cell membrane integrity and displayed mitochondrial depolarization. At same conditions, cell cycle analysis revealed decrease in G2/M and an increase in DNA fragmentation, suggesting that all compounds induces apoptosis. As suggested by flow cytometry, differential morphological analysis with AO/BE corroborates with the features of apoptosis in all tested doses. **Conclusion:** Our findings suggest that halogenated quinones reduce tumor cell proliferation triggering apoptosis in HL-60 cells. More studies must be done to evaluate the introduction of chlorine and its higher cytotoxicity when compared to fluoro group. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute

### 09.036

Screening da atividade antitumoral de frações da espécie *Solanum cernuum* Vell. Grando, R.<sup>1</sup>; Lourenço, A.<sup>2</sup>; Carvalho, J. E.<sup>3</sup>; Lopes, L. C.<sup>4</sup> - <sup>1</sup>UNIMEP-FACIS; <sup>2</sup>Universidade Nova de Lisboa - Química; <sup>3</sup>UNICAMP-CPQBA; <sup>4</sup>UNIMEP-UNISO

**Introdução:** Em trabalhos realizados por este grupo de pesquisadores sobre o extrato de diclorometano da espécie *Solanum cernuum* Vell., verificou-se que este manifesta atividade antiulcerogênica no modelo de lesões gástrica por etanol (81% de inibição) e anti-helicobacter (IC < 30 µl/L). Identificaram-se como compostos majoritários, no extrato de diclorometano uma série de alcanos (C<sub>25</sub>-C<sub>34</sub>), triterpenos de esqueleto de 31-norcicloartanona, dos quais os mais abundantes são a cicloeucalenona e a 24-oxo-31-norcicloartanona, e ainda uma xantina, a luteína. A planta tem como indicação popular de uso (raízes e partes aéreas) no tratamento de úlceras gástrica, problemas hepáticos, afecções da pele além de inflamações crônicas. Existem dados epidemiológicos que identificam a inflamação crônica como fator de risco no desenvolvimento de diversos tipos de tumores. Como exemplo pode citar-se a inflamação produzida por *Helicobacter pylori* com o câncer gástrico. Nesta fase da pesquisa fracionou-se o extrato diclorometano, e se avaliou a sua atividade antineoplásica *in vitro*. **Metodologia:** Treze frações do extrato diclorometano da espécie *Solanum cernuum* Vell. nas doses de 0,25 µg/mL; 2,5 µg/mL, 25,0 µg/mL e 250,0 µg/mL, foram testadas em modelo *in vitro* (várias linhagens (NCBI) de células cancerígenas) para avaliar a inibição das mitoses e/ou morte de células carcinogênicas de mama, pulmão, ovário, próstata, cólon, rim, mama resistente e melanoma. Após a lavagem e secagem das linhagens, a proliferação celular foi determinada por dosagem da concentração das proteínas celulares por meio de espectrofotometria (540 nm) utilizando o corante SRB (Sigma Chemical Co., MO, St Louis). As absorbâncias foram encontradas equivalentes o percentual citostático ou citotóxicos das concentrações testadas. **Resultados:** Foi observado que na dose de 0,25 µg/mL dez frações apresentaram inibição seletiva superior a 50% em células carcinogênicas de pulmão; duas frações na mesma dose apresentaram 75% de inibição na multiplicação das células carcinogênicas de pulmão. Na dose de 2,5µg/mL essas mesmas frações inibiram completamente a multiplicação celular. As frações não inibiram o crescimento celular das demais culturas testadas. **Conclusão:** No presente estudo as frações estudadas do extrato diclorometano da espécie *Solanum cernuum* Vell. apresentaram efeito somente nas células carcinogênicas de pulmão o que implica a possibilidade de existir alguma característica de mecanismo de ação que aumenta a seletividade do composto ativo para essas células. A baixa seletividade dos fármacos, em geral, no tratamento de tumores é o principal problema na terapêutica da doença pelo que os resultados aqui apresentados se revestem de particular interesse. **Agradecimentos:** Os autores agradecem a colaboração do Prof. Dr. Keigo Minami pelo plantio da espécie *Solanum cernuum* Vell. O trabalho de investigação foi realizado sob os auspícios da rede CYTED (Subprograma X, Projecto X.10 PIGASTRIN).

### 09.037

Cytotoxic effects of a 2-Amino-*N*-alkyl-carboxylic acid mixture obtained from the zoanthid *Protopalythoa variabilis*. Abreu, P. A.<sup>1</sup>; Wilke, D. V.<sup>1</sup>; Silva, W. M. B.<sup>2</sup>; Araújo, R. M.<sup>2</sup>; Jimenez, P. C.<sup>3</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>4</sup>; Lotufo, L. V.<sup>5</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>3</sup>UFC - - Fisiologia e Farmacologia; <sup>4</sup>UFC - Química Orgânica; <sup>5</sup>UFC Oncologia Experimental

**Introduction:** In the continuing search to discover anticancer agents from marine sources, we have investigated the zoanthid *Protopalythoa variabilis*, an abundant cnidarian of the Brazilian northeastern coast. This work evaluated several cellular effects of a 2-amino-*n*-alkyl-carboxylic acids mixture obtained from a previous cytotoxicity-guided fractionation of the zoanthid *P. variabilis* collected at Paracuru beach (Ceará State, Brazil). **Methods:** MTT assay was performed to determinate IC<sub>50</sub> value of 2-amino-*n*-alkyl-carboxylic acids mixture against a leukemia cell line (HL-60) after 24 h. Morphological changes were observed by hematoxylin and eosin dying. The plasma membrane integrity, cellular density, DNA fragmentation and mitochondrial membrane potential changes were evaluated by flow cytometry. **Results and Discussion:** 2-amino-*n*-alkyl-carboxylic acids mixture showed IC<sub>50</sub> value of 0.54 µg/mL. Based on IC<sub>50</sub>, the following tests were performed at 0.1, 0.25 and 0.5 µg/mL on HL-60 cells after 24 h incubation. Flow cytometry analysis and morphological observations of HL-60 treated cells suggest that cells are suffering apoptosis by the intrinsic pathway at 0.25 µg/mL and showed intense cell membrane disruption, mainly at 0.5 µg/mL. Nuclear alterations, yet unknown, were observed at cells treated with 0.1 µg/mL. 2-amino-*n*-alkyl-carboxylic acids mixture is highly cytotoxic, triggering apoptosis by the intrinsic pathway. Apoio Financeiro: CNPq e InCB

### 09.038

Avaliação da atividade antiproliferativa do extrato de *Maytenus ilicifolia* em células de câncer de mama. Carneiro, L. B.<sup>1</sup>; Alvarenga, N. L.<sup>2</sup>; Simeoni, L. A.<sup>1</sup>; Ferro, E. A.<sup>2</sup>; Motoyama, A. B.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UnB-FCS; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Asunción - Fitoquímica

**Introdução:** A espécie *Maytenus ilicifolia*, comumente conhecida como “espinheira santa”, é utilizada na medicina popular para o tratamento de gastrites e úlceras gástricas. Recentemente, seu potencial citotóxico em células humanas HL-60 de leucemia foi relatado<sup>1</sup>. O presente trabalho objetivou investigar a atividade citotóxica do extrato etanólico de *Maytenus ilicifolia* em células de carcinoma mamário humano, isto é, provenientes de um tumor sólido, de alta incidência na população feminina mundial e causador de grande número de mortes.

**Métodos:** O extrato etanólico da casca da raiz de *Maytenus ilicifolia* foi obtido por ebulição durante 15 minutos, seguida de liofilização. Ele foi subsequenteiramente diluído em DMSO:etanol (2:3) e utilizado para tratamento de células MCF-7 de carcinoma mamário humano em ensaios de citotoxicidade e viabilidade celular. A DL50 foi calculada a partir da quantidade de células mortas (método colorimétrico) após tratamento com doses distintas (10-500 µg/mL) por 24h. A toxicidade relativa ao tempo foi determinada pelo tratamento com a DL50 por intervalos prolongados (1, 2, 3 e 4 dias) e contagem de células viáveis (exclusão de corante) em câmara de Neubauer. A taxa de apoptose foi aferida por citometria de fluxo, após tratamento com a DL50 por 24h. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e repetidos no mínimo 3 vezes. **Resultados:** O extrato etanólico de *Maytenus ilicifolia* mostrou significativa atividade antiproliferativa após 24h de tratamento a concentrações de 50, 250 e 500 µg/mL, resultando, respectivamente, nos percentuais de células viáveis (em comparação ao controle tratado com solvente):  $39,13 \pm 10,58 \%$ ,  $24,10 \pm 9,46 \%$  e  $18,99 \pm 11,14 \%$ . Resultados preliminares obtidos por citometria de fluxo sugerem que a redução do número de células viáveis observada após 24h de tratamento ocorre por apoptose. O tratamento prolongado das células MCF-7 com extrato de *Maytenus ilicifolia* demonstrou que a atividade antiproliferativa do extrato é mantida por pelo menos 4 dias, resultando em diminuição de células viáveis ao longo da duração do tratamento ( $0,80 \times 10^5 \pm 0,21 \times 10^5$  no dia 1 vs  $0,39 \times 10^5 \pm 0,43 \times 10^5$  no dia 4). **Discussão:** Os resultados obtidos demonstram o potencial antitumoral verificado para o extrato de *Maytenus ilicifolia* em células MCF-7. Estudos posteriores são necessários tanto para verificar se a toxicidade aqui observada é encontrada também em outras linhagens de células de carcinoma mamário, bem como para avaliar a existência de toxicidade do extrato em células normais. **Referências:** 1. Costa *et al.*, *Toxicol in Vitro*. 22(4):854, 2008. Apoio Financeiro: CNPq (bolsa de IC a LBC)

### 09.039

Cell cycle studies of HL-60 cells treated with a novel staurosporine analog derived from the endemic Brazilian tunicate *Eudistoma vancouveri*. Jimenez, P. C.<sup>1</sup>; Wilke, D. V.<sup>1</sup>; Ferreira, E. G.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Silveira, E. R.<sup>2</sup>; Lopes, N. P.<sup>3</sup>; Lotufo, L. V.<sup>1</sup> - <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química; <sup>3</sup>FCFRP - USP - Física e Química

**Introduction:** *Eudistoma vancouveri* Millar, 1977 is an endemic tunicate from the northeastern coast of Brazil, widely distributed on the intertidal zones of the rocky beaches in Ceará State. Previously, its crude extract showed an interesting bioactivity profile. After an extensive chemical and pharmacological study, a highly bioactive alkaloid isolated from the polar ends of the dichloromethane fraction was identified in a cytotoxicity-guided fractionation protocol. Antiproliferative activity was evaluated in various tumor cell lines and IC<sub>50</sub> was obtained in the ng-range (12 – 40 ng/mL for most cell lines tested). Structure elucidation revealed this alkaloid to be a novel close analog to staurosporine. This work accomplished a kinetics analysis of the novel alkaloid on the cell cycle progression of HL-60 cells. **Methods:** IC<sub>50</sub> for the alkaloid was obtained after 24, 48 and 72h incubation on HL-60 cell line using the MTT assay. Morphological analysis of treated cells was carried out by H/E and Giemsa staining. Cell cycle studies and other parameters were accessed by flow cytometry. Cells were treated and analyzed after 3, 6, 12, 24, 48 and 72h incubation. Reversibility of the effect was evaluated after 24 or 48h drug treatment followed by 24h drug-free incubation. Initiation of the effect was determined after 3, 6 or 12h drug treatment followed by drug-free incubation totalizing a 24h period. **Results and Discussion:** Cell cycle studies indicate that the alkaloid induces a G2-M arrest (at 40 ng/mL, 50%, 59% and 57% of cells were arrested at G2-M after 24, 48 and 72h treatment, respectively, against 22%, 25% and 17% for the non-treated culture). G2-M arrest effect is irreversible following drug removal. This effect is initiated during the first 3h of treatment, although it can only be substantially visualized nearly 24h after drug exposure, regardless of continuous drug stimuli. Morphological analysis of treated cells suggests that arrest is actually occurring in the G2 phase. Apoio Financeiro: FINEP, CNPq and InCB.

## 09.040

Molecular mechanisms of pterocarpan-induced cell cycle arrest in human breast cancer cells. Militão, G. C. G.<sup>1</sup>; Prado, M. P.<sup>2</sup>; Pessoa, C.<sup>3</sup>; Moraes, M. O.<sup>3</sup>; Silveira, E. R.<sup>4</sup>; Lima, M. A. S.<sup>5</sup>; Ponte, F. A. F.<sup>5</sup>; Curi, R.<sup>6</sup>; Lotufo, L. V.<sup>7</sup>; Machado-Santelli, G. M.<sup>2</sup> - <sup>1</sup>UFPI; <sup>2</sup>USP - Biologia Celular e do Desenvolvimento; <sup>3</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>4</sup>UFC - Química; <sup>5</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>6</sup>ICB-USP - Fisiologia e Biofísica; <sup>7</sup>UFC - Oncologia Experimental

**Introduction:** Pterocarpan are cytotoxic and antimitotic compounds that induce apoptosis in leukemia cells, being 2,3,9-trimethoxypterocarpan, the most active one causing cell cycle arrest at G2/M. The purpose of the present work was to evaluate the microtubule organization and cell cycle progression in MCF-7 cells treated with 2,3,9-trimethoxypterocarpan, 3,9-dimethoxypterocarpan, 3-hydroxy-9-methoxypterocarpan, 3,4-dihydroxy-9-methoxypterocarpan and 3,10-dihydroxy-9-methoxypterocarpan. **Methods:** The microtubules and actin filaments morphology, the presence of nuclear membrane and the centrosomes segregation of MCF-7 cells were accessed by immunofluorescence with confocal analysis. DNA content was determined by flow cytometry after 24h and 48h of treatment. Phase index was also determined by counting 1000 cells on each coverslip in a fluorescent microscope. **Results and discussion:** Pterocarpan showed an increased frequency of mitotic cells, mainly by arresting them in prometaphase with monoastral spindles surround by condensed chromosomes, being 2,3,9-trimethoxypterocarpan the most active compound. The cell treatment with 2,3,9-trimethoxypterocarpan induced cell cycle arrest at G2/M (36.9 %) compared with control (19.1%), but it does not affect the microtubules organization during interphase. Immunofluorescence with anti  $\alpha$ -tubulin antibody showed a double dot labeling in the spindle polar region, suggesting that 2,3,9-trimethoxypterocarpan treatment blocked the centrosomes segregation. This effect was reversible after an additional 24h period of incubation in a drug-free medium, and most of the arrested cells re-entered the cell cycle. However after 48h treatment a subdiploid DNA content increased and morphological analysis revealed the presence of multinucleated cells. The results indicated that MCF-7 treatment with 2,3,9-trimethoxypterocarpan transiently arrest cells at mitosis with monoastral spindles and then cells enter in a multinucleated interphase state resulting in cell death. These data reinforce that 2,3,9-trimethoxypterocarpan is acting at motor proteins involved with centrosome migration during mitosis, inhibiting cancer cell proliferation. Financial Support: CNPq, CAPES, BNB, FINEP, FUNCAP and ICB.



**09.041**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.042

Efeito antinociceptivo de diferentes extratos das partes aéreas da *Rheedia achachairu* Rusby (Clusiaceae). Alves, D. R.<sup>1</sup>; Dal Molin, M. M.<sup>1</sup>; Silva, S.<sup>1</sup>; Cechinel-Filho, V.<sup>2</sup>; Niero, R.<sup>3</sup>; Quintao, N. L. M.<sup>4</sup> <sup>1</sup>UNIVALI - Ciências da Saúde; <sup>2</sup>UNIVALI - NIQFar; <sup>3</sup>UNIVALI - CCS/NIQFAR; <sup>4</sup>UNIVALI - Ciências Farmacêuticas

**Introdução:** *Rheedia achachairu* Rusby (Clusiaceae) é uma planta pertencente ao gênero *Garcinia* (ex-*Rheedia*), cuja espécie de maior semelhança é a *Garcinia mangostana*. Algumas das espécies deste gênero apresentam substâncias químicas tais como biflavonóides e benzofenonas de grande importância para a indústria farmacêutica. No entanto, poucos estudos científicos são encontrados na literatura tanto da parte química quanto biológica da *Rheedia achachairu*. Este trabalho tem como objetivo investigar o possível efeito antinociceptivo de diferentes extratos obtidos das folhas, caule ou sementes da *R. achachairu* Rusby em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos machos (25-35g, N=6-8, Swiss). Os animais foram pré-tratados intraperitonealmente com diferentes extratos da *R. achachairu* (1-30 mg/kg) ou salina, e após 30 min, foram submetidos ao teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6 %, 10 ml/kg). Após a injeção i.p. de ácido acético, os animais foram observados individualmente durante 20 min, e o número total de contorções foi tomado como índice de nocicepção. **Resultados:** O pré-tratamento com o extrato MeOH obtido das folhas (1-30 mg/kg) foi capaz de reduzir, de forma dependente de dose, o número de contorções induzidas pelo ácido acético ( $57 \pm 8$  %), com DI50% de 21,67 (15,20 – 30,91) mg/kg. Entretanto, os extratos MeOH obtidos das sementes ou do caule foram capazes de causar uma inibição dependente da dose e de maneira mais efetiva, com inibições de  $72 \pm 4$  % e  $73 \pm 6$  %, respectivamente. Os valores de DI50% obtidos foram 13,11 (9,32 – 18,46) mg/kg para o extrato obtido das sementes e 15,08 (11,89 – 19,12) mg/kg para o extrato obtido do caule. Outro grupo de animais foi pré-tratado com a fração hexânica, fração clorofórmica ou com a fração acetato de etila obtidas do extrato das folhas da *R. achachairu*. O tratamento com as frações hexânica ou clorofórmica inibiu de maneira significativa com inibições de  $72 \pm 7$  % [DI50% = 21,36 (15,7 – 29) mg/kg] e  $61 \pm 9$  % [DI50% = 22,11 (15,3 – 31,96) mg/kg], respectivamente. **Conclusão:** Estes resultados demonstram o significativo efeito antinociceptivo de diferentes extratos obtidos das partes aéreas da *R. achachairu*, com destaque para os extratos obtidos do caule e das sementes. Entretanto, estudos adicionais estão sendo realizados para melhor delinear este potencial antinociceptivo, bem como para a identificação de seus princípios ativos responsáveis por tal atividade. Apoio Financeiro: CNPq; FAPESC-SC; ProPPEC/UNIVALI

### 09.043

Avaliação do efeito do ácido mirsinóico B em diferentes modelos de hipernocicepção inflamatória e neuropática persistentes em camundongos. Antonialli, C. S.<sup>1</sup>; Monteiro, E. R.<sup>2</sup>; Malheiros, A.<sup>3</sup>; Yunes, R. A.<sup>4</sup>; Souza, M. M.<sup>5</sup>; Quintão, N. L. M.<sup>6</sup> <sup>1</sup>UNIVALI - Ciências Farmacêuticas; <sup>2</sup>UNIVALI - Farmácia; <sup>3</sup>UNIVALI – NIQFAR - CCS; <sup>4</sup>UFSC - Química; <sup>5</sup>UNIVALI - Farmácia; <sup>6</sup>UNIVALI - Ciências Farmacêuticas

**Introdução:** Na medicina popular, a *Rapanea ferruginea* é utilizada no tratamento de algumas patologias, dentre elas, processos inflamatório e doloroso (Testoni, 2004). Estudos preliminares demonstraram que tanto o extrato da *Rapanea ferruginea* quanto o ácido mirsinóico B (AMB), isolado das cascas da mesma, apresentaram atividade antinociceptiva em diferentes modelos de dor aguda em camundongos (Hess, 2006). Também observou-se que o composto desempenha interação com as vias de serotoninérgica, GABAérgica, oxidonitrérgica, colinérgica e via dos glicocorticóides endógenos (Hess, 2006). Este trabalho tem como objetivo investigar o possível efeito do AMB frente a modelos de hipernocicepção de origem inflamatória e neuropática persistentes em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos fêmeas (25-35g, N=6-8, Swiss). Os animais foram pré-tratados oralmente com o AMB (1-30 mg/kg) ou salina. Em seguida os animais foram submetidos aos modelos de hipernocicepção mecânica induzida pela carragenina (300 mg/pata), pelo CFA (adjuvante completo de Freund, 20 ml/pata) ou pela constrição parcial do nervo ciático (CPNC). Em seguida a sensibilidade mecânica dos animais foi avaliada em diferentes intervalos de tempo através do filamento de von Frey 0,4 g e a sensibilidade a estímulo frio pelo teste da acetona. Por fim, foi investigada a existência de efeitos indesejáveis nos animais tratados com o AMB. **Resultados:** O pré-tratamento dos animais com AMB (30 mg/kg) foi capaz de inibir significativamente a hipernocicepção mecânica por até 72 h após a injeção de carragenina (62 ± 4 %). Entretanto, no modelo de hipernocicepção induzida pelo CFA, o pré-tratamento com AMB não interferiu com o surgimento da resposta hipernociceptiva em nenhuma das doses testadas. O tratamento sistêmico com o AMB no 4º dia após a CPNC, foi capaz de reverter a sensibilização mecânica por até 6 h. Com a administração continuada do composto 2 vezes ao dia (12 X 12 h) foi observada uma inibição de 60 ± 9 % da resposta hipernociceptiva perdurando por até 9 dias após a cirurgia. O tratamento curativo com o AMB (30 mg/kg, v.o.) também foi capaz de reverter a sensibilidade a estímulos frios no teste da acetona, com inibição de 97 ± 3 %. Ademais, o tratamento dos animais com AMB (30 mg/kg) não foi capaz de alterar a atividade locomotora, o desempenho motor e a temperatura corporal dos animais. **Conclusão:** Os dados do presente trabalho demonstram que o AMB exerce uma ação anti-hipernociceptiva marcante quando administrada oralmente nos modelos de dor inflamatória induzida pela carragenina ou ainda, de dor neuropática causada pela CPNC em camundongos. Estes dados, em conjunto com resultados anteriores aumentam o conhecimento acerca das atividades farmacológicas desempenhadas pelo AMB, bem como confirmam cientificamente a utilização da *Rapanea ferruginea* na medicina popular. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESC-SC, ProPPEC/UNIVALI

#### 09.044

Avaliação da atividade antinociceptiva do extrato bruto das folhas de *Baccharis dracunculifolia* dc asteraceae. Santos, D. A.<sup>1</sup>; De Sousa, J. P.<sup>2</sup>; Da Silva Filho, A. A.<sup>3</sup>; Andrade, S. F.<sup>1</sup>; Quintão, N. L. M.<sup>4</sup> <sup>1</sup>UNIVALI - Ciências da Saúde; <sup>2</sup>FCF-USP Ciências Farmacêuticas; <sup>3</sup>UNIFRAN - Química de Produtos Naturais; <sup>4</sup>UNIVALI - Ciências Farmacêuticas

**Introdução:** A *Baccharis dracunculifolia*, popularmente conhecida como vassoura ou alecrim-do-campo, é amplamente utilizada na medicina caseira para disfunções estomacais, problemas hepáticos e como antiinflamatório, e é uma das maiores fontes de própolis verde (Lorenzi e Matos, 2002). Por ser uma planta nativa do sul do Brasil e considerando a necessidade de novos fármacos para o tratamento de diferentes tipos de dor com efeitos adversos reduzidos, são necessários novos estudos a cerca das possíveis propriedades antinociceptivas da *B. dracunculifolia*, para melhor justificar cientificamente sua utilização popular. Este trabalho tem como objetivo investigar o possível efeito antinociceptivo do extrato bruto hidroalcolólico obtido das folhas da *B. dracunculifolia* frente a modelos de nocicepção aguda em camundongos.

**Métodos:** Foram utilizados camundongos machos (25-35g, N=6-8, suíços). Os animais foram pré-tratados oralmente com o extrato bruto da *B. dracunculifolia* (25-400 mg/kg) ou salina e, após 1 h, foram submetidos aos testes de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%) e aos modelos de nocicepção espontânea induzida pela formalina (2,5%), capsaicina (1,6 mg/pata) ou glutamato (30 mmol/pata). Em seguida os animais foram observados individualmente em funis de vidro e o número de contorções ou o tempo em que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada foi tomado como indicativo de nocicepção.

**Resultados:** O pré-tratamento com extrato da *B. dracunculifolia* (50-400 mg/kg, v.o.) foi capaz de reduzir o número de contorções induzidas pelo ácido acético, com inibição máxima de  $43 \pm 9$  % na dose de 100 mg/kg. No modelo de nocicepção induzida pela formalina, observou-se que nos animais tratados oralmente com o extrato houve uma redução significativa da resposta nociceptiva tanto na fase neurogênica ( $58 \pm 7$  %) quanto na fase inflamatória ( $83 \pm 6$  %) do teste, com valores de DI50% de 259 (185-361) mg/kg e 81 (36 -180) mg/kg, respectivamente. Os animais tratados com o extrato da *B. dracunculifolia* (100-400 mg/kg) tiveram suas respostas nociceptivas induzidas pela injeção de capsaicina reduzidas, com inibição de  $43 \pm 3$  %. Por fim, no modelo de nocicepção induzida pelo glutamato, o extrato da *B. dracunculifolia* (50-400 mg/kg) foi capaz de inibir significativamente a resposta nociceptiva com inibição de  $63 \pm 6$  % e DI50% de 304 (223-413) mg/kg. **Conclusão:** Estes resultados demonstram significativo efeito antinociceptivo do extrato bruto da *B. drachunculifolia* no modelos de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, bem como na nocicepção induzida pela formalina, capsaicina ou glutamato. Estes resultados em parte confirmam cientificamente a utilização popular da *B. drachunculifolia* como terapia antiinflamatória além de demonstrar seu potencial como fármaco analgésico. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESC-SC, ProPPEC/UNIVALI

**09.045**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.046

Atividade antiinflamatória do óleo essencial das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. Dutra, R. C.<sup>1</sup>; Fava, M. B.<sup>1</sup>; Alves, C. C. S.<sup>2</sup>; Ferreira, A. P.<sup>2</sup>; Barbosa, N. R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UFJF - NIQUA; <sup>2</sup>UFJF - Imunologia

**Introdução:** *Pterodon emarginatus* Vogel, conhecida popularmente por sucupira-branca é uma leguminosa de ampla dispersão no cerrado brasileiro. Apresenta características de planta pioneira, adaptada a terrenos secos e pobres. Na medicina popular a infusão de suas cascas e folhas tem eficiente ação anti-reumática, analgésica e antiinflamatória; além disso, o óleo essencial de suas sementes tem demonstrado atividade contra cercárias do *Schistosoma mansoni*. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antiinflamatório do óleo essencial obtido das sementes de *Pterodon emarginatus*. **Métodos:** Sementes de *Pterodon emarginatus* foram coletadas em Três Marias/MG – depositadas no Herbário CESJ (n° 48077)/Universidade Federal de Juiz de Fora. O óleo essencial (OE) foi extraído por hidrodestilação em *Clevenger* por 4 h. A atividade antiinflamatória do OE foi avaliada em camundongos *Swiss* (n=10/grupo), nas doses de 100, 300 e 500 mg/kg, administrado por via oral, 1 h antes da pleurisia induzida por injeção de carragenina 1% intrapleural. Indometacina (10 mg/kg) e celecoxib (18 mg/kg) foram utilizados como fármacos de referência. Migração celular, volume de exsudato, concentrações de nitrato/nitrito (NO<sub>x</sub>), TNF-α e IL-1α, foram avaliados 4 h, após a administração da carragenina 1% (intrapleural), conforme protocolos específicos. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média. Diferenças estatísticas entre os grupos foram demonstradas através da ANOVA, seguida por *Bonferroni*. **Resultados e Discussão:** O OE obtido das sementes de *Pterodon emarginatus* (300 e 500 mg/kg, v.o.), causou marcada redução no volume de exsudato (58,75 ± 0,03%, 61,03 ± 0,05%), na migração de leucócitos (16,82 ± 1,13%, 46,25 ± 0,40%), no número de leucócitos polimorfonucleares (63,42 ± 0,50%, 65,86 ± 0,19%), nas concentrações de NO (77,88 ± 0,03%, 82,01 ± 0,03%) e IL-1α (33,50 ± 6,98%, 37,57 ± 10,60%) comparado com o grupo tratado apenas com salina. Por outro lado, o OE não apresentou efeito no número de leucócitos mononucleares e na concentração de TNF-α. Tais achados justificam estudos mais detalhados e sugerem o potencial do OE obtido das sementes de *Pterodon emarginatus* no tratamento de doenças inflamatórias crônicas. Apoio Financeiro: CAPES

## 09.047

Estudo da ação antinociceptiva das frações polares obtidas das cascas de *Persea cordata* Meisn. (Lauraceae) em modelos farmacológicos específicos. Santos, M.; Ferreira, M. Schlemper, V. <sup>1</sup>UDESC - Medicina Veterinária

**Introdução:** A *P. cordata* Meisn. é uma árvore da Floresta das Araucárias que sua casca é utilizada popularmente para afecções de pele, úlcera gástrica e gastrite. Estudos prévios demonstraram importantes efeitos farmacológicos em diferentes modelos experimentais *in vivo* e *in vitro*. (Schlemper *et al.*, 2000,2003;2007; Silva, 1997; Martins & Oliveira, 1997; Mello & Gil, 1996; Pereira *et al.*, 1998). O objetivo deste trabalho foi verificar a atividade biológica da planta, investigando o efeito antinociceptivo das frações semi-purificadas metanólica (MP) e de acetato de etila (AEP) das cascas de *P. cordata* em testes de dor induzida quimicamente. **Métodos:** Camundongos suíços (25-30 g) foram tratados pelas vias intraperitoneal (i.p.) e via oral (v.o.) com as frações MP ou AEP, 1 hora antes da administração do irritante. O estímulo doloroso foi induzido por uma solução de ácido acético 0,6% via i.p. e observada as contorções abdominais. Também foi avaliada a atividade antinociceptiva no modelo de dor induzida pela formalina a 2,5%, onde a formalina foi aplicada na região plantar da pata posterior direita e quantificado o tempo em segundos que o animal permaneceu lambendo/mordendo a pata injetada. **Resultados:** Quando administrado via i.p. nas doses de 10 a 100 mg/kg, a MP apresentou significativo efeito inibitório sobre as contorções abdominais causadas pelo ácido acético, com inibição máxima (IM) de 97,76 % e potência (DI<sub>50</sub>) de 22 (9,32-51,93) mg/kg. Da mesma maneira, a AEP (1 a 30 mg/kg, i.p.), também apresentou significativo efeito inibitório nesse modelo de dor com IM de 96,58% e a DI<sub>50</sub> de 5,53 (1,64-18,65) mg/kg. Ao ser administrada pela v.o., a AEP (100 a 800 mg/kg) inibiu significativamente a dor induzida pelo irritante químico, com valores de DI<sub>50</sub> de 325,91 (286,66-370,53) mg/kg e IM de 89,77% em relação ao grupo controle. Quando administrado i.p. a AEP (30 a 300 mg/kg) inibiu de forma significativa a dor causada pela formalina, tanto na primeira [IM= 65,39% e DI<sub>50</sub> de 68,2 (33,3-92,4) mg/kg] como na segunda fase [IM= 60% e DI<sub>50</sub> de 173,8 (133,3- 192,4) mg/kg] do teste. Quando administrado por v.o., a AEP (100- 800 mg/kg) inibiu significativamente tanto a primeira [IM= 55,95 % e DI<sub>50</sub> de 558,25 (494-622) mg/kg], quanto a segunda fase [IM= 56,39 e DI<sub>50</sub> de 311,25 (160-491) mg/kg] deste teste. **Discussão:** Os resultados sugerem que a MP e a AEP apresentam significativo e potente efeito analgésico inespecífico nos modelos utilizados, observados tanto pela via sistêmica como pela via oral, indicando que a planta pode conter algum(ns) composto(s) químico(s) ativo(s) que poderia(m) ser utilizado(s) como um potencial fármaco para o combate de dores de origem periférica.

## 09.048

Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effect of *Talauma ovata*: analgesic effect of the alkaloid xylopinine and its synthetic analogue n-acetylxyllopinine. Boller, S.<sup>1</sup>; Kassuya, C. A. L.<sup>1</sup>; da Silva, C. J. F.<sup>2</sup>; Cremonese, A. C.<sup>1</sup>; Batista, S. D.<sup>1</sup>; Barros, L. F. L.<sup>2</sup>; Silva, R. M.<sup>3</sup>; Stefanello, M. E. A.<sup>2</sup>; Zampronio, A. R.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFPR - Química; <sup>3</sup>USP - Instituto de Biociências

**Introduction:** *Talauma ovata* A.St.-Hil. is a Brazilian tree popularly known as pinha-do-brejo or baguaçu which has been used as febrifuge (trunk bark). However, no data has been published to support the antipyretic (and its possible anti-inflammatory and analgesic-associated effect) ethnopharmacological use. In this study we aimed to evaluate the anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activity of the ethanolic extract (EETO), dichloromethane (DCM) fraction and xylopinine obtained from *T. ovata* trunk bark and the analogue N-acetylxyllopinine (AXIL). **Methods:** Male Swiss mice (25-35 g) received orally EETO (10-100 mg/kg), DCM fraction (15 mg/kg), xylopinine (0.15 mg/kg), AXIL(0.15 mg/kg), or vehicle (10 ml/kg) and after 1h an injection of carrageenan (Cg, 300 µg/paw), acetic acid (AA, 0.8 %, i.p.), or lipopolysaccharide (LPS, 50µg/kg, i.p.). Paw oedema was measured using a micrometer and allodynia by Von Frey hairs after Cg injection. AA-induced writhing was evaluated for 20 min. Body temperature was measured by remote data loggers. After the same treatment with EETO, xylopinine and AXIL, animals were also submitted to rota-rod and hot plate test. **Results:** Oral administration of EETO (10-100 mg/kg) significantly inhibited AA-induced writhing with maximal inhibition of  $91.0 \pm 9.0\%$  and ID<sub>50</sub> of 18.69(7.15–48.85) mg/kg. EETO (100 mg/kg), the DCM fraction (15 mg/kg), xylopinine or AXIL (both 0.15 mg/kg, p.o.) inhibited the mechanical allodynia (inhibition of  $40.0 \pm 6.0\%$ ,  $84.0 \pm 9.0\%$ , 100 % and  $82 \pm 8\%$ , respectively) 4 h after Cg injection. EETO (30-100 mg/kg) and the DCM fraction (4.5-15 mg/kg), also reduced the oedema 4 h after carrageenan (38 and 51%, respectively) and LPS-induced fever (92 and 96.5%, respectively). However, xylopinine or AXIL (both 0.15 mg/kg, p.o.) were ineffective to reduce the oedema or fever at the doses used. No change was observed in the latency of the hot-plate test or the motor performance of the animals with any treatment. **Conclusion:** This study shows for the first time that extracts and compounds obtained from *T. ovata* exhibit anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activity and xylopinine seems to be the main compound responsible for analgesic actions. The stable derivative AXIL possess a similar analgesic activity.



## 09.049

Atividade antinociceptiva do extrato e frações isolados das cascas da *Tabebuia avellanedae* (Ipê-roxo). Twardowschy, A.<sup>1</sup>; Freitas, C. S.<sup>2</sup>; Pizzolatti, M. G.<sup>3</sup>; Marques, M. C. A.<sup>2</sup>; Santos, A. R. S.<sup>4</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>3</sup>UFSC - Química; <sup>4</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas

**Introdução:** *Tabebuia avellanedae*, conhecida popularmente como ipê-roxo, possui algumas indicações etnofarmacológicas como antiinflamatória, antiinfeciosa e protetora gástrica. O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antinociceptiva do extrato bruto etanólico e frações obtidas das cascas do ipê-roxo na nocicepção química causada pelo ácido acético e formalina em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss machos (30-40 g, n= 7 a 10 animais por grupo). Cascas da *T. avellanedae* foram maceradas durante sete dias com etanol 95%. Após concentração se obteve o extrato bruto etanólico do ipê-roxo (EET). O EET foi então submetido a um fracionamento em coluna de sílica gel eluída, coletando-se um total de 70 frações que foram analisadas por cromatografia em camada fina e reunidas conforme a similaridade do perfil químico. Utilizamos três "pools" de frações chamadas de F33, F45 e F55. O EET (100 e 300 mg/kg) e as frações (30 a 300 mg/kg) foram administrados por via oral 1 h antes da injeção do agente irritante. A resposta nociceptiva foi caracterizada através do número de contorções abdominais (durante 20 min) induzida pela injeção i.p. de ácido acético (0,6%, 0,45 ml/animal). A nocicepção também foi testada no modelo da injeção de formalina (2,5%, 20 µl/pata), que é caracterizada pelo tempo em segundos que o animal permanece lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada. Foi utilizado o teste estatístico ANOVA de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls, foi considerado significativo (\*) p<0,05. **Resultados:** O pré-tratamento dos animais com EET e F45 (300 mg/kg) inibiram em 46±5%\* e 57±7%\* o número de contorções, respectivamente, sendo que os animais controle apresentaram 38±5,2 contorções abdominais. As frações F33 e F55 inibiram o número de contorções de forma dependente da dose com DI<sub>50</sub> de 103.4 e 237.3 mg/kg, respectivamente. Quando os animais foram testados com formalina o grupo controle apresentou um TLM de 59±1,5 s para a 1° fase e 291±19 s para a 2° fase. A dose de 300 mg/kg de EET apresentou inibição de 27±10% e 62±5%\* para a 1° e 2° fase, respectivamente. O EET inibiu significativamente somente a 2° fase da nocicepção, com DI<sub>50</sub> de 348.4 mg/kg. A fração F33 (300 mg/kg) inibiu a nocicepção induzida pela formalina tanto na 1° (20±7%\*) quanto na 2° fase (24±7%\*). **Discussão:** Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o EET e suas frações apresentam atividade antinociceptiva em camundongos. A fração F33 se mostrou a mais potente das três testadas, e também quando comparada ao EET. A antinocicepção periférica observada, em diferentes modelos, sugere que existem compostos específicos presentes nas frações que são responsáveis pela ação antinociceptiva do extrato das cascas da *T. avellanedae*.

## 09.050

Análise preliminar da atividade antinociceptiva de *Imperata brasiliensis* Trin. Souza, V. H. S.<sup>1</sup>; Spindola, H. M.<sup>2</sup>; Cama, D. A.<sup>2</sup>; Foglio, M.<sup>2</sup>; Carvalho, J. E.<sup>1</sup> <sup>1</sup>CPQBA-UNICAMP - Farmacologia e Toxicologia; <sup>2</sup>CPQBA-UNICAMP - Fitoquímica - CPQBA

**Introdução:** A dor está presente em muitas condições patológicas, muitas vezes incapacitante, sendo seu controle uma das prioridades terapêuticas mais importantes. O Brasil possui uma biodiversidade vegetal particularmente rica da qual uma grande parte ainda permanece sem estudo químico ou biológico. A espécie *Imperata brasiliensis* (Poaceae), é uma planta daninha muito freqüente em solos ácidos da costa litorânea e da região Sudoeste do país e seus rizomas são empregados na medicina caseira (Carvalho *et al*, 2000). O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antinociceptiva da fração acetato de etila (FAE) obtida do extrato bruto hidroetanólico (EBH) de *Imperata brasiliensis*. **Métodos:** Rizomas secos e moídos foram submetidos à extração a frio por maceração dinâmica com solução etanol/água 3:1 originando o EBH que foi submetido a um processo de partição com acetato de etila originando a fração aquosa e a FAE. Submetemos a FAE a dois ensaios: contorções abdominais induzidas por ácido acético (Koster *et al*, 1959), na qual uma solução de ácido acético 0,8% foi injetada intraperitonealmente em camundongos Swiss (n=8) e o número de contorções foi indicativo de nocicepção e o teste de algesia induzido por capsaicina, no qual uma solução de capsaicina 1,6 µg/pata foi injetada subcutaneamente na região subplantar (n=8) e o tempo que o animal permaneceu lambendo a pata foi indicativo para avaliação de nocicepção. Em ambos os ensaios, solução salina 0,9% e indometacina 30 mg/kg foram utilizadas como controle negativo e positivo respectivamente. **Resultados:** A FAE, submetida ao teste das contorções abdominais apresentou redução do número de contorções em relação ao controle negativo de 65,8%, 56,3% e 48,2% nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg respectivamente. Já a indometacina reduziu o número de contorções em 76,3%. As mesmas doses foram submetidas ao teste da capsaicina, no qual não foi observada redução significativa do tempo de reação. **Discussão:** Estes resultados preliminares nos permitem determinar a possível ação antinociceptiva da FAE através do teste de contorções abdominais sugerindo ação antinociceptiva inespecífica, por mediação neurogênica ou inflamatória. A capsaicina ativa receptores vaniloides mostrando que a FAE não apresenta atividade relacionada a estes receptores. Outros ensaios serão realizados com a finalidade de avaliar os possíveis mecanismos responsáveis pela atividade antinociceptiva de *I. brasiliensis*. **Referências:** Carvalho, M. M., *et al.*; *R. Bras. Zootec.*; 29(1): 33-39, 2000. Koster, R., *et al*; *Fed Proceeding*. 18: 412, 1959. Apoio Financeiro: CNPQ e Capes

## 09.051

Avaliação da administração crônica de *Trifolium pratense* L. em mama de ratas ooforectomizadas. Lourenço, A. L.<sup>1</sup>; Silva, A. C. M.<sup>2</sup>; Ferreira, A. C. F.<sup>2</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup>; Carvalho, D. P.<sup>2</sup>; Sollero, C. S. T.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>IBCCF-UFRJ – Biofísica

**Introdução:** A terapia de reposição hormonal (TRH ) está associada à maior incidência de câncer de mama, o que tem levado as mulheres a procurarem alternativas de tratamento. Desta forma, houve aumento no consumo de produtos fitoterápicos com atividade hormonal estrogênica, principalmente, produtos de venda livre ou através de prescrição médica. Estes produtos, conhecidos como fitohormônios ou fitoestrogênios, são estruturalmente similares aos esteróides endógenos, e possuem maior afinidade pelos receptores estrogênicos do subtipo  $\beta$ . O *Trifolium pratense* é uma planta rica em isoflavonas, que tem sido amplamente utilizada na terapia de reposição hormonal, havendo inclusive produtos industrializados em comercialização. Entretanto, apesar de existirem dados epidemiológicos que indiquem um efeito protetor das isoflavonas sobre o tecido mamário, ainda não há consenso quanto aos reais efeitos destes produtos sobre a mama, sendo necessário novos estudos para certificar a segurança de seu uso. **Objetivo:** O trabalho tem como objetivo caracterizar os efeitos da administração crônica de *Trifolium pratense* sobre as mamas de ratas ooforectomizadas (OVX), através de critérios histológicos. **Protocolo:** Foram utilizados cinco grupos de tratamento: **SHAM** (Fêmeas intactas, tratadas com veículo), **OVX** (tratadas com veículos), **E2** (OVX, tratadas com 17-beta-estradiol 5 mg/100 g de peso corporal), **Tp** (OVX, tratadas com extrato de *Trifolium pratense* L. 500 mg/100 g de peso) e **E2 +Tp** (OVX, tratadas com ambos), o Tp foi administrado por gavagem na forma de suspensão do extrato padronizado, contendo 8% de isoflavonas e o E2 por via subcutânea, ambos por 60 dias. Ao final do tratamento, o animais foram sacrificados e os tecidos mamários retirados e preparados para análise histométrica. **Discussão e Conclusão:** O tratamento de longo prazo com o Tp em ratas não leva a alterações glandulares significativas, com ausência de adenose. Além disso, o tratamento com Tp teve efeito protetor no tecido mamário durante o tratamento simultâneo com E2, pois houve redução da adenose quando comparada ao tratamento isolado com E2. Quanto à funcionalidade da glândula, esta não parece ser alterada pelo tratamento com o Tp, sendo mantida a função secretora, embora menor que a presente no grupo E2. Pelo exposto, podemos concluir que o Tp pode ser uma boa alternativa à TRH, uma vez que, ao contrário da terapia convencional, não causa efeitos indesejáveis sobre a mama. Entretanto, ainda é necessário conhecer melhor a atividade isolada de cada isoflavona.

## 09.052

Efeitos produzidos pela alga *Chlorella vulgaris* na ativação de macrófagos peritoneais e esplênicos de camundongos portadores de tumor ascítico de Ehrlich. Ramos, A. L.<sup>1</sup>; Queiroz, M. L. S.<sup>2</sup><sup>1</sup>UNICAMP - Farmacologia; <sup>2</sup>UNICAMP – Farmacologia Hemocentro

**Introdução e Objetivos:** *Chlorella vulgaris* (*C. vulgaris*, família: Oocystaceae, descrita por M. W. Beijerinck, 1890), é uma alga unicelular rica em nutrientes, que tem demonstrado possuir importantes atividades profiláticas e terapêuticas contra infecções virais e bacterianas, tumores, entre outros. No presente trabalho, avaliamos os efeitos do extrato de *Chlorella vulgaris* (ECV) sobre a ativação de macrófagos peritoneais e esplênicos de camundongos Balb/c machos portadores de Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE). Isto pois, macrófagos são considerados como a primeira linha de defesa da resposta imunológica contra invasores, sendo um dos tipos celulares de maior eficácia do sistema de defesa imune antitumoral do hospedeiro e um dos mais importantes componentes da imunidade natural envolvidos tanto na inibição do crescimento do tumor quanto na destruição de suas células. Macrófagos ativados iniciam o programa de morte celular principalmente através da liberação de mediadores imunológicos solúveis. **Métodos:** Macrófagos foram coletados do baço e peritônio de camundongos, após administração oral de ECV (50 mg/kg/dia) durante 10 dias antes da inoculação do TAE ( $6 \times 10^6$  células/animal, i.p.), e até a data de sacrifício (3<sup>o</sup>, 8<sup>o</sup> ou 13<sup>o</sup> dias após a inoculação), n=6/grupo. Os baços foram coletados assepticamente, macerados e a porcentagem de macrófagos da suspensão celular foi quantificada por citometria de fluxo com marcador FITC anti-mouse Mac-3 (eBioscience – cod. 11-5989-82). As células foram plaqueadas ( $1 \times 10^5$  macrófagos/well) em placa de cultura de 24 wells e incubadas em estufa úmida a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> por 2h para aderência dos macrófagos. Após o período de incubação as células não aderentes foram aspiradas e adicionou-se 1 mL de meio RPMI enriquecido com 5% de SBF em cada poço e, em seguida, solução de LPS (5 mg/mL). As placas foram incubadas novamente em estufa úmida, a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. Após 24h, o sobrenadante foi coletado individualmente de cada orifício e congelado a -20°C para posteriormente dosagem de citocinas. Para coletar os macrófagos peritoneais foram realizados lavados peritoneais com meio RPMI a 4°C, a concentração celular foi ajustada em câmara de Neubauer e  $1 \times 10^5$  macrófagos foram plaqueados em cada well de placa de cultura de 24 well e em seguida submetidos ao mesmo protocolo dos macrófagos esplênicos. As concentrações de TNF-alfa, IFN-gama e IL-10 foram quantificadas no sobrenadante de cultura através do método imunoenzimático (ELISA). **Resultados e Discussão:** Em animais normais, o tratamento com ECV aumentou ( $p < 0.001$ ) nos níveis de TNF-alfa no sobrenadante de culturas de macrófagos peritoneais e esplênicos, sem alterar a produção de IFN-gama e IL-10. A presença do TAE aumentou 2 vezes a produção de TNF-alfa por macrófagos do baço (em relação ao controle não-tratado,  $p < 0.001$ ), ao mesmo tempo que reduziu 1,3 vezes a produção desta citocina por macrófagos peritoneais ( $p < 0.001$ ). Paralelamente, houve redução na produção de IFN-gama ( $p < 0.001$ ) e aumento na produção de IL-10 ( $p < 0.001$ ) nos dois sistemas de cultura. O tratamento com ECV reverteu o quadro imunossupressor induzido pelo TAE, diminuindo a liberação de IL-10 e aumentando a produção de IFN-gama pelas diferentes populações macrofágicas estudadas, além de modular a produção de TNF-alfa, induzindo assim, a ativação de macrófagos e especialmente alterando o padrão de resposta imune de Th<sub>2</sub> para Th<sub>1</sub>. **Conclusões:** O tratamento profilático/terapêutico de camundongos portadores de TAE com ECV induziu a ativação macrofágica restabelecendo a produção normal de IL-10, IFN-gama e TNF-alfa por macrófagos peritoneais, enquanto que uma reversão parcial foi observada nos efeitos produzidos pela presença do TAE na atividade dos macrófagos esplênicos. Apoio Financeiro: FAPESP

### 09.053

*Screening* de candidatos a protótipos de fármacos naturais como potenciais agentes imunomoduladores e leishmanicida. Queiroz, A. C.<sup>1</sup>; Dias, T. L. M. F.<sup>1</sup>; Cupertino-Silva, Y. K.<sup>1</sup>; Souza, E. T.<sup>1</sup>; Sant'ana, A. E. G.<sup>2</sup>; Nunes, M. P.<sup>3</sup>; Martins, M. V.<sup>3</sup>; Alexandre-Moreira, M. S.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>UFAL - Farmacologia e Imunidade; <sup>2</sup>UFAL - Recursos Naturais; <sup>3</sup>FIOCRUZ - Imunoparasitologia

**Introdução:** A flora brasileira representa uma rica fonte para o *screening* de substâncias com potencial antiparasitário, assim muitas substâncias de origem natural podem servir como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos com atividade leishmanicida. **Métodos:** Para a avaliação farmacológica da atividade imunomoduladora e leishmanicida de substâncias naturais provenientes do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais - LPRN, macrófagos inflamatórios foram obtidos do exsudato peritoneal de camundongos, infectados com *Leishmania major* por 4 horas, lavados e cultivados em estufa de CO<sub>2</sub>, na presença ou ausência das substâncias LPRN 1, LPRN 2, LPRN 3, LPRN 4, LPRN 5, LPRN 6, LPRN 7 e LPRN 8. Após 3 dias de cultura, o meio DMEM + 1% de nutridoma foi removido e as monocamadas de macrófagos infectados foram cultivados em meio Schneider's + 10% de SFB e incubadas a 27°C para, posteriormente, ser determinada a carga parasitária extracelular. Também foi quantificada a carga parasitária intracelular, em modelo de infecção em lamínula. **Resultados:** As substâncias inibiram a replicação evolutiva promastigota de forma concentração-dependente: na concentração de 50 µg/ml, todas as substâncias exibiram porcentagem de inibição de replicação na faixa de 98%; já nas concentrações de 10 µg/ml, 1 µg/ml e 0,1 µg/ml, todos os compostos apresentaram inibição superior a 50%, com exceção de LPRN 3 (17,8%) e LPRN 5 (44,5%) na concentração de 10 µg/ml, e LPRN 8 na menor concentração, cuja porcentagem de inibição foi 8,2%. Nas concentrações de 10 µg/ml, 1 µg/ml e 0,1 µg/ml, as substâncias que apresentaram maior porcentagem de inibição foram, respectivamente, LPRN 1 (87%), LPRN 7 (93,4%) e, mais uma vez, LPRN 1 (92,5%). Com relação à taxa de infecção dos macrófagos, a substância LPRN 3, LPRN 7, LPRN 8 inibiram a infecção de macrófagos na faixa de 84,6%, 92,6% e 91,4%, respectivamente. **Discussão:** Esses resultados indicam que tais isolados inibem a replicação da *L. major*. Estes dados justificam estudos mais detalhados sobre estes compostos, identificando os possíveis mecanismos de ação, abrindo novas perspectivas para o desenvolvimento de novos protótipos de fármacos. Apoio Financeiro: PIBIC/CNPq, FAPEAL-SESAU-PPSUS, Instituto do Milênio-INOVAR

#### 09.054

Antinociceptive activity of triterpene 3b, 6b, 16b-trihidroxilup-20(29)-ene obtained from *Combretum leprosum* Mart. Longhi-Balbinot, D. T.<sup>1</sup>; Lanznaster, D.<sup>1</sup>; Silva, M. D.<sup>1</sup>; Facundo, V. A.<sup>2</sup>; Santos, A. R. S.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas; <sup>2</sup>UNIR- Química

**Introduction:** In a previous study, we reported that the ethanolic extract obtained from the flowers of *C. leprosum* showed dose-related antinociception in several models of chemical and thermal pain. The present study aims to investigate the antinociceptive effect of 3b, 6b, 16b-trihidroxilup-20(29)-ene (TTHL), a pentacyclic triterpene isolated from this plant, in glutamate-induced nociception in mice. And further investigate the possible mechanism that underlies the antinociceptive activity of TTHL. **Methods:** Swiss mice of both sexes were used (25-35g; N=6-8). Firstly, we investigate the effect of TTHL given by oral (p.o.) route, in the glutamate (Glu)-induced nociception in the mouse paw (20 nmol/paw, i.pl.). In another set of experiments the mice received TTHL (3-100 mg/kg, p.o.) followed by an i.pl. injection of glutamate at different time points (1, 2, 4, 8 and 10 h after the treatment) in order to measure the time course of the antinociceptive action of TTHL. To investigate the possible participation of the opioid system in the antinociceptive effect of TTHL, the mice were pretreated with naloxone (1 mg/kg, i.p.), and after 20 min, the animals received an injection of TTHL (30 mg/kg, p.o.), morphine (2.5 mg/kg, s.c) or vehicle (10 ml/kg, p.o). Other groups were pretreated with vehicle and after 20 min received TTHL, morphine or vehicle. The nociceptive responses to glutamate were recorded, 30, 60 or 60 min after the administration of morphine, TTHL or vehicle, respectively. **Results:** TTHL given orally (3-100 mg/kg) evoked dose-dependent inhibition of the Glu-induced nociception. The mean  $\pm$  SEM, ID<sub>50</sub> values and inhibition were, respectively: Glu: 262.5 $\pm$ 9.5; TTHL 30: 115.9 $\pm$ 8.7, 19 (13.2-27.5) and 56 $\pm$ 3%. When glutamate was administered at different time points after TTHL treatment, we identified that TTHL had a peak of response after 1 h from the treatment (Glu: 334.2 $\pm$ 35.1; TTHL 30: 208.3 $\pm$ 21.7; 59 $\pm$ 6% of inhibition). TTHL had a significant effect against nociception up to 6 h from the treatment (Glu: 330 $\pm$ 38.4; TTHL 30: 208.3 $\pm$ 38.7; 37 $\pm$ 6% of inhibition). The pre-treatment of mice with naloxone (N; 1 mg/kg, i.p.), given 20 min beforehand, reversed the antinociception caused by TTHL (30 mg/kg, p.o.) and morphine (M; 2.5 mg/kg, s.c) when analyzed against glutamate-induced nociception (Glu: 264.9 $\pm$ 24.8; M: 81.1 $\pm$ 14.4; N+M: 212.5 $\pm$ 29.2; TTHL: 120.3 $\pm$ 17.3; N+TTHL: 232.4 $\pm$ 27). **Discussion:** These results showed a significant antinociceptive effect of TTHL against glutamate-induced nociception. Furthermore, the antinociceptive effect of TTHL could have been through mechanisms that involve an interaction with the opioid system. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, UFSC

## 09.055

Efeito antiinflamatório prolongado da crotoxina: contribuição da lipoxina. Nunes, F. P. B.; Sampaio, S. C.; Sousa-e-Silva, M. C. C. Instituto Butantan - Fisiopatologia

**Introdução:** A literatura demonstra que o veneno de *Crotalus durissus terrificus* (VCdt) e a sua principal fração, a crotoxina modula a resposta inflamatória. Nesse sentido foi demonstrado que o VCdt e a crotoxina inibem a fagocitose por macrófagos peritoneais. Além disso, foi evidenciado que esse efeito inibitório está associado ao aumento da produção de lipoxina A<sub>4</sub>, um potente mediador antiinflamatório gerado pela via da 5-lipoxigenase que entre outras ações inibe a migração de neutrófilos. Recentemente foi demonstrado o efeito antiinflamatório prolongado do VCdt e da crotoxina sobre os eventos vasculares e celulares da inflamação induzida pela carragenina (cg). Baseado nesses dados o objetivo do presente trabalho foi investigar a contribuição da lipoxina no efeito antiinflamatório prolongado da crotoxina. Para tanto, utilizando o modelo de migração celular induzida pela carragenina, foi investigado o efeito do Boc-2, um antagonista de receptor para lipoxina, sobre a ação antiinflamatória da crotoxina. **Métodos:** O antagonista de receptor para lipoxina (Boc-2) (10 µg/200 µL via i.p.) foi administrado 30 minutos antes da injeção subcutânea de crotoxina (0,89 µg/50 µL via s.c.) ou salina (grupo controle) em camundongos Swiss, machos, (18-22 g) (n=6). O tratamento com a crotoxina (única dose) foi realizado 1h, 7 ou 14 dias antes da injeção intraperitoneal de cg (300 µg/200 µL) ou salina. Após 4hs da injeção de cg ou salina, a migração celular para a cavidade peritoneal foi avaliada. A contagem total de células (células x 10<sup>6</sup>/mL) foi realizada em Câmara de Neubauer e a diferencial em esfregaços corados pancromicamente. **Resultados:** Os animais pré-tratados com a crotoxina 1h ou 7 dias ou 14 dias apresentaram respectivamente, um decréscimo estatisticamente significativo de 47%, 44% e 33% na migração celular para a cavidade peritoneal induzida pela carragenina. Entretanto, não foi observado decréscimo significativo na migração celular nos animais injetados com o Boc-2 30 minutos antes da injeção de crotoxina (1h: sal+sal+cg: 1,4 ± 0,05; boc+ctx+cg: 1,2 ± 0,07; sal+ctx+cg: 0,73 ± 0,08, p<0,05), (7 dias: sal+sal+cg: 1,8 ± 0,06; boc+ctx+cg: 1,7 ± 0,09; sal+ctx+cg: 1,0 ± 0,05, p<0,05), (14 dias: sal+sal+cg: 1,81 ± 0,14; boc+ctx+cg: 1.82 ± 0,06; sal+ctx +cg: 1,21 ± 0,06;p<0,05). **Discussão:** Os resultados mostram que o Boc-2 bloqueia o efeito antiinflamatório da crotoxina. Dessa forma podemos sugerir que o efeito antiinflamatório desta toxina é mediado em parte pela ação da lipoxina. Apoio Financeiro: CNPq e FAPESP

**09.056**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**



## 09.057

Efeito inibitório do extrato aquoso da casca de *Bowdichia virgilioides* sobre o recrutamento leucocitário *in vivo*. Silva, J. P.<sup>1</sup>; Agra, I. K. R.<sup>1</sup>; Ferro, J. N. S.<sup>1</sup>; Barros, B. S.<sup>1</sup>; Rodarte, R. S.<sup>1</sup>; Martins, M. A.<sup>2</sup>; Silva, P. M. R. e<sup>2</sup>; Frutuoso, V.<sup>2</sup>; Barreto, E.<sup>1</sup> <sup>1</sup>ICBS-UFAL; <sup>2</sup>FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

**Introdução:** Demonstramos anteriormente que o extrato aquoso da casca de *B. virgilioides* (EABv) possui atividade antinociceptiva (Silva e col., 39º SBFTE, 2007, p. 113). Neste trabalho objetivamos investigar a influência do EABv no recrutamento de leucócitos no modelo de inflamação aguda e crônica. **Métodos:** Neste estudo foram utilizados camundongos Swiss machos (18-22 g). Na inflamação aguda, os animais foram pré-tratados por 1 h por via intraperitoneal (i.p.) com salina (NaCl, 0,9 %), EABv (10 e 100 mg/kg) ou dexametasona (DEXA; 0,5 mg/kg) e estimulados intratoracicamente com carragenina (1 %, 0,1 mL/cavidade). Após 4 h foi determinado o número de neutrófilos presentes na cavidade torácica (cél/cav). Na inflamação crônica, os animais foram anestesiados e receberam um implante subcutâneo de algodão (10 mg) no dorso. Após 24 h, os animais foram injetados diariamente com salina, EABv (10 e 100 mg/kg, i.p.) ou DEXA (0,5 mg/kg, i.p.) por 6 dias consecutivos. Vinte e quatro horas após o último tratamento, o granuloma foi removido e o número de leucócitos totais e o peso seco avaliados. Os resultados foram expressos como média±epm foram P<0,05 significantes. **Resultados:** A injeção de carragenina foi capaz de induzir acúmulo de neutrófilos na cavidade torácica (de 0,1±0,03x10<sup>6</sup> cél/cav para 4,8±0,5x10<sup>6</sup> cél/cav, p<0,001), sendo o tratamento com EABv nas doses de 10 e 100 mg/kg capaz de inibir este fenômeno (para 3,0±0,08x10<sup>6</sup> cél/cav e 2,4±0,3x10<sup>6</sup> cél/cav, respectivamente, p<0,001). Neste modelo, o tratamento com DEXA também suprimiu o acúmulo de neutrófilos (para 1,2±0,08x10<sup>6</sup> cél/cav, p<0,001). Na inflamação crônica, o tratamento diário com EABv, apenas na dose de 100 mg/kg foi capaz de reduzir o infiltrado de leucócitos no granuloma (para 2,6±0,5x10<sup>5</sup> cél/granuloma, p<0,05) quando comparado ao grupo salina (4,1±0,1x10<sup>5</sup> cél/granuloma). Além disso, o mesmo tratamento inibiu o peso do granuloma (de 19,9±3,1 mg para 12,5±0,6 mg, p<0,05). De modo semelhante, o tratamento com DEXA promoveu inibição tanto no peso (10,5±1,0 mg, p<0,01) quanto no recrutamento de leucócitos (1,6±0,1x10<sup>5</sup> cél/granuloma, p<0,001) para o granuloma. **Discussão:** Nossos resultados sugerem que o EABv apresenta importante atividade inibitória do recrutamento leucocitário em modelos de inflamação aguda e crônica, contribuindo assim para a validação do uso popular desta planta. Estudos estão em andamento para esclarecer os mecanismos de ação e os princípios ativos responsáveis pela atividade estudada. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, IOC/FIOCRUZ.

## 09.058

Avaliação da atividade antiinflamatória das folhas de *Clusia nemorosa* Mey. Farias, J. A. C de<sup>1</sup>; Ferro, J. N. S.<sup>1</sup>; Barros, B.S.<sup>1</sup>; Agra, I. K. R.<sup>1</sup>; Silva, J. P.<sup>1</sup>; Oliveira, F. M.<sup>2</sup>; Conserva, L. M.<sup>2</sup>; Barreto, E.<sup>1</sup> <sup>1</sup>ICBS-UFAL -; <sup>2</sup>IQB-UFAL

**Introdução:** Demonstramos anteriormente que a fase hexânica do extrato etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* (FH) apresentou atividade antinociceptiva que independe de mecanismos centrais de nocicepção (Ferro e col., 39° SBFTE, 2007, p. 112). Estendendo nossas atividades, nesta etapa do trabalho objetivamos avaliar a atividade antiinflamatória da FH no modelo de inflamação aguda e crônica em camundongos. **Métodos:** Camundongos Swiss machos (18-22 g) foram sensibilizados com ovalbumina (OVA, 50 mg) e Al(OH)<sub>3</sub> (5 mg) e após 14 dias desafiados com OVA (12 µg/cav). O pré-tratamento com FH (10 e 100 mg/kg, i.p.) ocorreu 1 h antes do desafio alérgico e a celularidade avaliada no tempo de 4 ou 24 h após estímulo. Em outro grupo experimental, após 1 h do tratamento com FH os animais foram injetados com carragenina (1 %, 0,1 mL/cavidade) e em 4 horas foi avaliado o total de neutrófilos recrutados para a cavidade torácica. Para a inflamação crônica foi usado o modelo de formação de granuloma induzido por implante subcutâneo de algodão (10 mg). Neste modelo, o tratamento (i.p.) foi iniciado 24 h após a cirurgia com injeção diária de salina, FH ou dexametasona (1 mg/kg) por 6 dias consecutivos. No 7º dia após cirurgia, o granuloma foi removido e o peso avaliado após secagem em estufa. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. foram P<0,05 significantes. **Resultados:** O tratamento prévio com FH, apenas na dose de 100 mg/kg, foi capaz de reduzir o infiltrado de neutrófilos para a cavidade torácica 4 h após o desafio alérgico (1,0±0,2 x10<sup>6</sup> cél/cav, P<0,001) em relação ao grupo controle (2,3 ± 0,1 x10<sup>6</sup> cél/cav). O mesmo tratamento não interferiu com o influxo de eosinófilos notado 24 h após o estímulo. Na pleurisia induzida pela carragenina ocorreu um marcado aumento no acúmulo de neutrófilos (de 0,6±0,1 para 5,2±0,6x10<sup>6</sup> cél/cav, P<0,001), fenômeno que foi inibido pelo pré-tratamento com FH nas doses de 10 e 100 mg/kg (2,3±0,5x10<sup>6</sup> e 2,1±0,2x10<sup>6</sup> cél/cav, P<0,001, respectivamente). Na inflamação crônica, o pré-tratamento com FH (10 e 100 mg/kg) não interferiu com a formação do granuloma (17,5±0,3 mg e 16,9±0,5 mg, respectivamente) em relação ao grupo tratado com salina (18,0±1,4 mg). Neste mesmo experimento, a injeção de dexametasona (1 mg/kg, i.p.) reduziu o peso de granuloma (10,5±0,4 mg, P<0,05) comparado ao grupo controle. **Discussão:** Nossos resultados sugerem que o FH inibe o recrutamento leucocitário apenas em reações inflamatórias agudas mostrando-se seletivo para o acúmulo de neutrófilos. Estudos estão em andamento para esclarecer os mecanismos de ação e os princípios ativos responsáveis pela atividade estudada. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, PIBIC/CNPq

## 09.059

Atividade antinociceptiva DO  $\alpha$ -spinasterol isolado da *Baccharis illinita* DC. Freitas, C. S.<sup>1</sup>; Baggio, C. H.<sup>1</sup>; Marcon, R.<sup>2</sup>; Werner, M. F. P.<sup>2</sup>; Pizzolatti, M. G.<sup>3</sup>; Soldi, C.<sup>3</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup>; Santos, A. R. S.<sup>4</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Farmacologia; <sup>3</sup>UFSC - Química; <sup>4</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas

**Introdução:** Estudos preliminares realizados pelo nosso grupo demonstraram que a fração hexânica (FH) obtida das partes aéreas da *B. illinita* apresenta atividade antinociceptiva em diversos modelos de nocicepção química em camundongos, sugerindo inclusive, a participação do sistema glutamatérgico e de citocinas pró-inflamatórias. O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antinociceptiva do  $\alpha$ -spinasterol ( $\alpha$ S - composto isolado da FH). **Métodos:** Camundongos Swiss machos e fêmeas foram utilizados (30g, n=7). O  $\alpha$ S foi administrado (0,1-10 mg/kg, ip) 30 min antes da injeção de ácido acético (AE 0,6%, 450ml, ip). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo número de contorções abdominais (durante 20 min) induzidas pelo AE. O  $\alpha$ S (0,1 a 30 mg/kg, ip, 30 min antes do estímulo nociceptivo) também foi testado nos modelos de nocicepção química induzidos pela injeção (20 ml) intraplantar (i.pl) de formalina (For 2,5%), ácido acético (AE 2% pH1,98), glutamato (Glu 20 mM/pata) e capsaicina (Cap 1,6mg/pata), que se caracterizam pelo tempo que o animal permanece lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada com o agente irritante. Também foi avaliada a participação das fibras sensíveis à Cap na nocicepção induzida pelo Glu em animais que tiveram essas fibras degeneradas através da administração subcutânea de Cap (50 mg/kg) no período neonatal. **Resultados:** O  $\alpha$ S reduziu o número de contorções abdominais com  $DI_{50}$  de 4.55 (1.68-12.32 mg/kg e inibição de 56±8%. A nocicepção induzida pela injeção i.pl de For e AE não foi revertida pela administração do  $\alpha$ S. No entanto, o  $\alpha$ S reduziu o TLM induzido pelo Glu com  $ID_{50}$  de 0.97 (0.35-2.65) mg/kg e inibição de 56±6. O TLM induzido pela Caps também foi reduzido com a administração do  $\alpha$ S com  $ID_{50}$  de 7.16 (3,87-13,23) mg/kg e inibição de 72±6%. O tratamento neonatal com Cap reduziu a nocicepção causada pelo Glu. O pré-tratamento com Cap não reverteu o efeito antinociceptivo do  $\alpha$ -Spinasterol. **Discussão:** Os resultados obtidos neste trabalho estendem estudos anteriores e sugerem que os compostos isolados da *B. illinita* apresentam importante atividade antinociceptiva em camundongos. Além disso, o  $\alpha$ -Spinasterol parece ser, pelo menos em parte, responsável pelo efeito antinociceptivo da *B. illinita*, sendo que ele foi cerca de 3 mil vezes mais potente que a fração de onde foi extraído. O mecanismo de ação não está completamente esclarecido, porém, estudos estão em andamento visando caracterizar o provável mecanismo responsável pela ação antinociceptiva produzida por esse composto. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPESC, UFSC, UFPR

## 09.060

Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto e das frações (resina e aquosa) da *Malva sylvestris* L. (Malvaceae) em modelos de inflamação aguda em camundongos. Prudente, A. S.<sup>1</sup>; Loddi, A. V.<sup>1</sup>; Rauh, L. K.<sup>1</sup>; Pochapski, M. T.<sup>2</sup>; Santos, F. A.<sup>3</sup>; Mendes, D. A. G. B.<sup>1</sup>; Zacarias, A. A.<sup>4</sup>; Pizzolatti, M. G.<sup>4</sup>; Cabrini, D. A.<sup>1</sup>; Otuki, M. F.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UNICAMP - FOP; <sup>3</sup>UEPG - Odontologia; <sup>4</sup>UFSC - Química

**Introdução:** A *Malva sylvestris* é uma planta herbácea, dispersa pelos continentes europeu, africano e americano. No Brasil, é cultivada nas regiões sul e sudeste, sendo utilizada na medicina popular no tratamento de tosses e doenças inflamatórias principalmente de mucosa. Sua ação antiinflamatória e cicatrizante foi avaliada anteriormente (Loddi, 2007). O objetivo deste estudo é verificar a ação antiinflamatória tópica do extrato bruto, da fração aquosa e resina do extrato hidroalcoólico da *M. sylvestris* em modelos de inflamação aguda em pele de camundongos. **Metodologia:** Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (25-30g; N = 3-10) e edema de orelha foi induzido pela aplicação tópica do 12-O-tetradecanoilforbol acetato (TPA) (2,5 µg/sítio) ou do ácido araquidônico (AA) (2 mg/sítio). A espessura (µm) da orelha foi avaliada antes e 6 ou 1 h após o TPA ou o AA, respectivamente, utilizando um micrômetro digital (Great MT-045B). O extrato bruto da *Malva sylvestris* (EBMS), a resina (RE) e a fração aquosa (FA) foram dissolvidos em 20 µl de acetona e aplicados na face interna da orelha dos camundongos logo após os agentes flogísticos nas doses de 0,01 – 3 mg/sítio. Decorrido 24 h da aplicação do TPA, os animais foram sacrificados e amostras (círculos de 6 mm de tecido da orelha direita) foram coletadas para a avaliação da atividade da mieloperoxidase (MPO), como indicativo da migração de neutrófilos. Amostras das orelhas 6 h após a indução foram coletadas e processadas as análises histológicas. **Resultados:** O EBMS foi capaz de inibir de forma dose-dependente o edema induzido pelo AA com  $DI_{50}$  0,39 (0,37 – 0,42 mg/sítio) e  $I_{max}$  de  $80 \pm 3\%$  (3 mg/sítio). No edema causado pelo TPA o EBMS apresentou  $DI_{50}$  de 0,36 (0,14 – 0,9 mg/sítio) e  $I_{max}$  de  $77 \pm 6\%$  (3 mg/sítio) e a atividade da MPO foi também reduzida com valor de  $DI_{50}$  de 0,46 (0,3 – 0,7 mg/sítio) e  $I_{max}$  de  $73 \pm 1\%$  (3 mg/sítio). A RE inibiu em  $53 \pm 5\%$  (3 mg/sítio) o edema de orelha e em  $79 \pm 2\%$  a atividade da MPO induzidos pelo TPA. Já a FA reduziu o edema induzido pelo TPA em  $31 \pm 7\%$  (3 mg/sítio) não alterando a atividade da MPO. A análise histológica mostraram que o tratamento com EBMS causou redução do edema e na infiltração celular causada pelo TPA na dose de 3 mg/sítio, assim como no controle positivo (dexametasona). **Discussão:** Os resultados apresentados sugerem que o EBMS, RE e FA possuem ação antiinflamatória quando aplicados topicamente, sendo que o EBMS e a RE alteraram o edema e o infiltrado celular. Novos experimentos estão sendo realizados para o estudo dos mecanismos envolvidos nessas atividades. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, Fundação Araucária e UFPR

## 09.061

Pharmacological approaches of *Lonomia obliqua* caterpillar crude extract and antagonism by marine brown algae. Fuly, A. L.<sup>1</sup>; Domingos T. F.<sup>1</sup>; Moura L. A.<sup>1</sup>; Launville, V. T.<sup>2</sup>; Ferreira, W. J.<sup>3</sup>; Miranda, A. L. P.<sup>4</sup>; Melo, P. A.<sup>5</sup>; Guimarães, J. A.<sup>6</sup> <sup>1</sup>UFF- Biologia Celular e Molecular; <sup>2</sup>UFF- Biologia Marinha; <sup>3</sup>UFF- Química Orgânica; <sup>4</sup>UFRJ - Farmácia - LASSBio; <sup>5</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>6</sup>UFRGS

**Introduction:** The envenomation by *Lonomia obliqua* caterpillar is dangerous to human beings and is characterized by hemorrhagic and blood clotting disorders, acute renal failure and sometimes leading to death. Several studies are concerned to the hemostatic and anti-hemostatic principles present in *L. obliqua*, and some of them have already been purified. The aim of this work was to study the myotoxic, phospholipase A<sub>2</sub>, edema formation by the *Lonomia obliqua* caterpillars and the use of marine brown algae to inhibit such activities.

**Methods and Results:** The spicule extract of *L. obliqua* was obtained by thermal stress and assayed for myotoxicity analyzing the increase of releasing of creatine kinase (CK) from muscle of mice; for edema formation using a glass plethysmometer in paws of Wistar rats which received a single subplantar injection of *L. obliqua* crude extract. Phospholipase A<sub>2</sub> activity was measured by the indirect hemolytic test or by using fluorescent phospholipids, NBD-phosphatidylcholine (NBD-PC), from Avanti Polar Lipids. The results showed the myotoxicity of *L. obliqua* venom when compared to muscle that received saline. Indeed, *L. obliqua* elicited edema formation in paw rats that was not vanished when rats were treated with dexamethasone (10 mg/kg) or indomethacin (2 mg/kg). The doses of *L. obliqua* used in such experiments did not produce a macroscopic hemorrhage or other bleeding disorders. *L. obliqua* venom also produced hemolysis and hydrolyzed NBD-PC. There is a narrow correlation between PLA<sub>2</sub> activity and the related biological tests performed, since treatment *L. obliqua* venom with p-bromophenacil bromide (p-BPB) abolished all of them. Furthermore, preliminary results showed that hemolysis caused by *L. obliqua* venom was fully inhibited by the crude extract of the brown marine algae *Dictyota pfaffi*. In contrast, the extracts of the marine algae, *Canistrocarpus cervicornis* and *Styopodium zonale* did not inhibit *L. obliqua*'s hemolysis. **Conclusions:** We found for *L. obliqua* venom significant levels of myotoxicity, edema and hemolysis. The extract of *Dictyota pfaffi* inhibited the hemolysis of *L. obliqua*. This finding indicates that marine algae may be used as antivenom and may contribute for the development of compounds with antilonomic effect. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FAPERJ, UFF/PROPP and FAPERGS

## 09.062

Involvement of Heme-oxygenase in the increase in vascular permeability caused by *Bothrops jararacussu* snake venom. Scatamburlo, R. M. B.; Saccon, C. M. T.; Hyslop, S. UNICAMP - Farmacologia

**Introduction:** Heme-oxygenase (HO) mediates the degradation of heme, with the formation of biliverdin IX, iron and carbon monoxide (CO). CO shares several physiological properties with nitric oxide (NO), including cyclic GMP-mediated vasodilation following activation of soluble guanylate cyclase. Envenoming by *Bothrops* snakes causes local effects such as edema, hemorrhage and necrosis. In this work, we examined the involvement of HO in the increase in vascular permeability caused by *Bothrops jararacussu* venom. **Methods:** Male Swiss mice (n=6/group) were anesthetized with urethane (2.3 g/kg, i.p.) and the dorsal skin shaved. Test agents (antagonists and/or venom) were injected intradermally (i.d.) in a fixed volume of 50  $\mu$ l of Tyrode solution. The non-selective HO inhibitor ZnDPBG was injected i.d. (25-200 nmol/site) or intraperitoneally (45 or 90  $\mu$ mol/kg, i.p., 30 min before). In some experiments, the non-selective nitric oxide synthase inhibitor L-NAME (50-300 nmol/site) was also injected i.d. Changes in vascular permeability were assessed based on the extravascular accumulation of  $^{125}$ I-albumin (expressed in  $\mu$ l), as described elsewhere (Costa SKP *et al.*, *Vasc. Pharmacol.* **45**, 209, 2006). The results were expressed as the mean $\pm$ S.E.M. Statistical comparisons were done with ANOVA and the Bonferroni test (p<0.05 indicated significance). **Results:** Venom (0.1-3.0  $\mu$ g/site) caused a dose-dependent increase in vascular permeability. ZnDPBG did not inhibit the edema when co-injected i.d. with venom (1  $\mu$ g/site), whereas L-NAME did (56 $\pm$ 6% and 79 $\pm$ 3% inhibition with 100 and 200 nmol/site, respectively; n=6 each; p<0.05 compared to venom alone). In contrast, ZnDPBG inhibited venom-induced edema when injected i.p. (52 $\pm$ 6% and 74 $\pm$ 6% inhibition with 45 and 90  $\mu$ mol/kg, respectively; n=6 each; p<0.05 compared to venom alone). The combined administration of ZnDPBG (45  $\mu$ mol/kg, i.p.) + L-NAME (100 nmol/site) or ZnDPBG (90  $\mu$ mol/kg, i.p.) + L-NAME (100 nmol/site) caused 47 $\pm$ 8% and 66 $\pm$ 3% inhibition, respectively (n=6), which was similar to that seen with each dose of ZnDPBG alone. When the dose of L-NAME was 200 nmol/site in the presence of ZnDPBG (45  $\mu$ mol/kg, i.p.), the venom-induced increase in vascular permeability was completely inhibited. **Conclusion:** CO formed by HO contributes to the increase in vascular permeability caused by *B. jararacussu* venom. The inability of L-NAME to potentiate the inhibition seen with ZnDPBG suggests a common pathway for the action of CO and NO in this phenomenon. Financial support: CNPq, FAPESP.

### 09.063

Cytotoxic activity of *Kielmeyera coriacea* extracts in human cancer cells lines. Marinho-Filho, J. D. B.<sup>1</sup>; Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Mesquita, M. L.<sup>2</sup>; Paula, J. E.<sup>3</sup>; Espindola, L. S.<sup>4</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Araújo, R. M.<sup>5</sup>; Braz Filho, R.<sup>6</sup>; Silveira, E. R.<sup>7</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Lotufo, L. V.<sup>8</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UnB - Far; <sup>3</sup>UnB - Anatomia Vegetal; <sup>4</sup>UnB - Farmacognosia; <sup>5</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>6</sup>UENF - Ciências e Tecnologias; <sup>7</sup>UFC - Química; <sup>8</sup>UFC - Oncologia Experimental

**Introduction:** *K. coriacea* Mart is a deciduous tree, typical of the "cerrado" of Central Brazil. It is a medicinal plant used by the native population in the treatment of several tropical diseases such as malaria, schistosomiasis, leishmaniasis, and fungal or bacterial infections. The aim of this study was to investigate the cytotoxic effects of a fraction obtained from the hexane extract from the root bark of *K. coriacea*. **Methods:** The fraction was obtained from a hexane extract and fractionated on silica gel in ten fractions (F1–F10). Among them, F3 and F4 showed cytotoxic activity. The fraction 4 was subfractioned in 14 fractions (F4–1 to F4–14). The purification of subfraction F4–6 afforded a mixture of 2 compounds, called M2. The cytotoxicity of M2 was tested against some human cancer cell lines by MTT assay. The inhibition of proliferation was also determined by trypan blue dye exclusion test and DNA synthesis, using HL-60 as model. To further investigate the mechanisms involved in the cytotoxic activity, the effect of M2 on membrane integrity, cell cycle distribution, DNA fragmentation and mitochondrial depolarization were evaluated by flow cytometry. The differential morphology with hematoxylin-eosin and acridine orange/ethidium bromide (AO/EB) staining of treated cells were also analysed. **Results and Discussion:** M2 displayed cytotoxicity against all tested cancer cell lines, showing IC<sub>50</sub> values in the range of 8.1 to 23.6µg/mL in HL-60 and SF295, respectively. At both tested concentrations (5.0 and 10µg/mL), M2 reduced cell viability as demonstrated by the trypan blue exclusion test, however it only caused significant increase in the number of non-viable cells in the highest concentration. M2 inhibited 59.9% and 97.8% the DNA synthesis at the concentrations of 5.0 and 10µg/mL respectively. At concentrations of 5.0 and 10µg/mL, the cells of the G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> and S phase remained constant; however, there were fewer cells in the G<sub>2</sub>/M phase (8.8% and 0.7% against 15.5% of the control). The M2 caused significant DNA fragmentation and mitochondrial depolarization at both concentrations tested. The morphological analysis corroborated that treated cells underwent apoptosis followed by secondary necrosis. **Conclusion:** Our findings showed that compounds present in *K. coriacea* induced apoptosis in leukemia cells. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute

#### 09.064

*In vitro* cytotoxicity of an arylamino derivative of nor-b-Lapachone is not mediated by DNA interactions. Araújo, A. J.<sup>1</sup>; Moura, M. A. B. F.<sup>2</sup>; Goulart, M. O. F.<sup>2</sup>; Sombra, C. M. L.<sup>1</sup>; Vasconcelos, M. C.<sup>1</sup>; Silva-Junior, E. N.<sup>3</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Ferreira, V. F.<sup>3</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Montenegro, R. C.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFAL - Química; <sup>3</sup>UFF - Química Orgânica

**Introduction:** 2,2-Dimethyl-3-(3-nitro-phenylamino)-2,3-dihydro-naphtho[1,2-b]furan-4,5-dione (compound **1**) is an arylamino derivative of nor-b-lapachone (compound **2**) that has been shown to have a potent cytotoxicity against several cancer cell lines, with IC<sub>50</sub> below 1 µg/mL (< 2 µM), inducing apoptosis in HL-60 cells. Drugs containing quinone moiety show anticancer activity. Some of these drugs exert their anticancer activity by covalently binding to DNA thus triggering cell death. In this way, the anticancer activity underlying compounds **1** and **2** cytotoxicity was evaluated by their ability to interact to the ssDNA and dsDNA and by the ability to cause DNA strands break. **Methods and Results:** HL-60 cells were treated with compound **1** (0.5, 1.0 and 2.0 µM) and compound **2** (2 µM) at 3 and 24h in order to evaluate its interaction with DNA using the comet assay performed at pH 13. However, no damage was observed after 3h- and 24h-treatment at all concentrations for both compounds. These data corroborates with electrochemical experiments using dsDNA biosensor, where no dsDNA interaction was observed. The dsDNA biosensor is a stable, low cost, and readily adaptable analytical tools for the detection of DNA damage. It employs double- or single stranded DNA (dsDNA and ssDNA) immobilized onto the surface of an electrochemical transducer to provide the molecular recognition element through which specific DNA-binding processes may be assessed by the electrode. The extent of DNA damage may be determined by monitoring the oxidation of the exposed bases by voltammetric methods. **Discussion and Conclusion:** Understanding the structural and electronic properties of drug-DNA interactions and their mechanism of binding could be a key step in elucidating the principles of their anticancer activity, however no interaction was observed suggesting that the mechanism of action involved in compounds **1** and **2** anticancer properties is not primarily due to DNA damage. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES and Claude Bernard Institute



## 09.065

Estudos adicionais sobre a eficácia da *Vernonia scorpioides* em processos inflamatórios cutâneos. Rauh, L. K.<sup>1</sup>; Loddi, A. V.<sup>1</sup>; Biavatti, M. W.<sup>2</sup>; Otuki, M. F.<sup>3</sup>; Cabrini, D. A.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>CCS-UNIVALI; <sup>3</sup>UFPR - Farmacologia

**Introdução:** Em estudo prévio, o extrato etanólico das folhas da *V. scorpioides* (EEVS) se mostrou efetivo na reversão de processos inflamatórios cutâneos agudos e crônicos<sup>1</sup>. Este trabalho procurou complementar o estudo anterior. **Métodos:** Os experimentos foram realizados utilizando o modelo de edema de orelha de camundongos Swiss fêmeas (n=5-6). A espessura ( $\mu\text{m}$ ) da orelha foi medida com micrômetro digital antes e 1, 2 e 6 h após a aplicação do fenol, histamina e 12-O-tetradecanoilforbol acetato (TPA), respectivamente. O fenol (10%) e o TPA (2,5  $\mu\text{g}$ ) foram aplicados topicamente (20  $\mu\text{L}$  em acetona), em seguida os animais foram tratados com EEVS (1 mg/orelha), as frações acetato e diclorometano (0,01-0,6 mg/orelha) ou o composto isolado luteolina (0,6 mg/orelha). Os animais foram pré-tratados com EEVS (1 mg/orelha) e após 30 min foi administrado 5  $\mu\text{L}$  de histamina (100 mg/mL, i.d.). A indução da dermatite alérgica foi realizada conforme o método descrito por Fujii *et al.* (2002), sendo os animais tratados com EEVS (1 mg/orelha) na fase de sensibilização ou na fase de indução. Amostras do tecido das orelhas foram coletadas para a avaliação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) e para quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) através do ensaio da diclorofluoresceína em espectrofluorofotômetro. **Resultados:** O EEVS (1mg/orelha) inibiu de forma significativa o edema induzido pelo fenol (88 $\pm$ 6%) no modelo de dermatite irritativa, bem como o edema induzido pela oxazolona, quando o tratamento foi realizado na fase de indução (63 $\pm$ 4%). No modelo de hipersensibilidade imediata, o EEVS também apresentou uma redução do edema induzido pela histamina (25 $\pm$ 7%). As frações acetato e diclorometano inibiram o edema induzido pelo TPA de maneira dose-dependente ( $\text{DI}_{50}$  = 0,08 (0,05-0,11) mg/orelha e  $I_{\text{max}}$  = 66  $\pm$  6%;  $\text{DI}_{50}$  = 0,4 (0,23-0,71) mg/orelha e  $I_{\text{max}}$  = 63  $\pm$  6%, respectivamente), sendo também eficazes na inibição da atividade da MPO (78  $\pm$  1% e 63,5  $\pm$  5%, respectivamente). Da mesma forma, o composto luteolina apresentou ação anti-edematogênica com  $I_{\text{max}}$  de 44 $\pm$ 11%. O tratamento com EEVS também reduziu os níveis de ROS no tecido (43,92%), sendo esse efeito superior ao da luteolina (20,4%). **Discussão:** Este trabalho demonstra a eficácia antiinflamatória da *V. scorpioides* na dermatite de contato irritativa e alérgica, bem como a atividade antioxidante desta planta. Os resultados obtidos sugerem que tais atividades devem resultar de um efeito sinérgico de vários compostos. Assim, a *V. scorpioides* parece ser de significativo interesse no desenvolvimento de formulações destinadas ao tratamento de diversas condições dermatológicas. **Citação Bibliográfica:** 1) Rauh *et al*, SBFTE, 2007. 2) Fujii *et al*, Eur J Pharm, v.456, p. 115, 2002. Apoio Financeiro: CNPq, Fundação Araucária, UFPR.

## 09.066

*Combretum leprosum* Mart – Avaliação da atividade antiinflamatória tópica. Silva, C. D.<sup>1</sup>; Pietrovski, E. F.<sup>1</sup>; Facundo, V. A.<sup>2</sup>; Rios, K.<sup>2</sup>; Santos, A. R. S.<sup>3</sup>; Otuki, M. F.<sup>1</sup>; Cabrini, D. A.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIR - Química; <sup>3</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas

**Introdução:** *Combretum leprosum* é um arbusto comumente encontrado na região norte do Brasil. Popularmente conhecida como “mofumbo”, esta espécie é utilizada na medicina popular na cicatrização de feridas, no tratamento de hemorragias e como sedativo (Facundo, 2005). Estudos realizados com o extrato bruto e com compostos isolados, como triterpenos atribuem atividade analgésica a *Combretum leprosum* (Pietrovski, 2006). **Métodos:** Camundongos Swiss fêmeas (20-30g; N=5-10) foram utilizados para a realização dos experimentos. A atividade do extrato etanólico das flores de *C. leprosum* (EE), assim como do triterpeno isolado, 3b,6b,16b-trihidroxilup-20(29)-eno (TTHP) foi avaliada nos modelos de edema de orelha induzido por 12-O-tetradecanoilforbol acetato (TPA) e ácido araquidônico (AA). Para tanto, o aumento da espessura ( $\mu\text{m}$ ) da orelha foi medida, com o auxílio de um micrômetro digital (Great MT-045B), antes e 6 h e 1 h após a aplicação de TPA (2,5  $\mu\text{g}$ /orelha) e AA (2 mg/orelha), respectivamente. Os agentes flogísticos, assim como o extrato (0,01-1 mg/orelha) e o triterpeno (0,001-0,6 mg/orelha), foram dissolvidos em 20  $\mu\text{L}$  de acetona e aplicados na face interna da orelha direita. Após 24 h da aplicação os animais foram sacrificados, e amostras dos tecidos das orelhas foram coletadas para avaliação dos níveis da enzima mieloperoxidase (MPO), visto que a atividade desta indica a migração de neutrófilos. **Resultados:** O EE foi capaz de inibir o edema provocado tanto pela aplicação tópica de TPA quanto de AA, e ainda a atividade da MPO. A inibição do edema por TPA foi dose-dependente com  $\text{DI}_{50}$  de 0,11 (0,13-0,10) mg/orelha e  $I_{\text{max}}$ =96 $\pm$ 2 % (1 mg/orelha), assim como na atividade da MPO com  $\text{DI}_{50}$  de 0,13 (0,16-0,11) mg/orelha e  $I_{\text{max}}$ =86 $\pm$ 3 % (1 mg/orelha). No modelo de edema por AA o EE não apresentou atividade dose-dependente, entretanto inibiu o edema eficientemente com  $I_{\text{max}}$ =72 $\pm$ 2 % (1 mg/orelha). O TTHP reduziu o edema causado pela aplicação tópica de TPA com  $\text{DI}_{50}$  de 0,07 (0,03-0,10) mg/orelha e  $I_{\text{max}}$ =92 $\pm$ 3 % (0,6 mg/orelha). **Discussão:** Os resultados obtidos até o momento sugerem possível atividade antiinflamatória tópica para EE visto que este foi capaz de inibir o edema e migração celular induzidos por TPA e AA na pele, e também para TTHP que reduziu o edema induzido por TPA. Entretanto se faz necessário continuar as investigações acerca da atividade do EE assim como dos compostos isolados.

**Citação Bibliográfica:** Facundo, V. A. J. Braz. Chem. Soc., vol 16, 2005. Pietrovski, E.F. *Pharmacol Biochem Behav.*, vol. 83, p 90, 2006. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e Fundação Araucária.

**09.067**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.068

Atividade antinociceptiva do rizoma de *Echinodorus macrophyllus* Michell (chapéu-de-couro). Pereira, L. S.; Silva, W. R. C.; Silva, R. M.; Martins, D. T. O.; Lima, J. C. S. UFMT - Ciências Básicas em Saúde

**Introdução:** *Echinodorus macrophyllus* Michell, espécie conhecida popularmente por chapéu-de-couro, chá-mineiro, chá-de-campanha, erva-do-pântano e erva-do-brejo ocorre de Minas Gerais ao Rio Grande do Sul sendo utilizada popularmente no tratamento de reumatismo, dor, artrite, infecções urinárias, na congestão hepática, apesar de não haver relatos oficiais. No estado de Mato Grosso é utilizada na medicina popular como antiinflamatório. O presente trabalho teve como objetivo proceder ao monitoramento farmacológico das frações diclorometano (DCM), hexano (FHx) e acetato de etila (AEt) do rizoma de *E. macrophyllus* em modelos animais de nocicepção. **Métodos:** Camundongos foram tratados oralmente com DCM, FHx e AEt nas doses de 5 e 100 mg/kg, e avaliados nos testes de atividade antinoceptiva utilizando os modelos animais de dor: Teste de Formalina 1,5%, Contorções induzidas por ácido acético 0,6% e Placa Quente ( $55 \pm 1$  °C). **Resultados:** No teste de Placa Quente as frações estudadas não diferiram significativamente ( $p > 0,05$ ) em relação ao grupo controle, enquanto que no teste de Ácido Acético a fração DCM (100 mg/kg), FHx (5 e 100 mg/kg) e AEt (100 mg/kg) reduziu o número de contorções de  $34 \pm 10$  para  $8 \pm 4$  ( $p < 0,05$ ),  $5 \pm 3$  ( $p < 0,01$ ) e  $2 \pm 2$  ( $p < 0,01$ ), respectivamente, onde a indometacina reduziu para  $1 \pm 2$  ( $p < 0,01$ ). No teste da formalina em camundongos o pré-tratamento com as frações nas doses de 5 e 100 mg/kg, reduziram a reação dos animais na 1ª fase, em ambas as doses, alcançando maior redução com FHx (5 mg/kg) para  $24 \pm 5$  ( $p < 0,01$ ). Já na 2ª fase nenhuma das frações inibiram a resposta nociceptiva do teste da formalina onde a indometacina reduziu de  $76 \pm 5$  no veículo para  $29 \pm 5$  ( $p < 0,01$ ). **Discussão:** Os resultados mostram que o efeito já demonstrado para o extrato metanólico foi diluído entre as frações citadas, respondendo, pelo menos em parte, as atividades antinoceptivas demonstradas anteriormente. Apoio Financeiro: CNPq; CAPES; Centro de Pesquisas do Pantanal - CPP

**09.069**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.070

*Garcinia gardneriana* como antiinflamatório tópico. Bernardi, C. A.<sup>1</sup>; Silva, C. D.<sup>1</sup>; Prudente, A. S.<sup>1</sup>; Delle Monache, F.<sup>2</sup>; Cechinel Filho, Valdir<sup>2</sup>; Cabrini, D. A.<sup>1</sup>; Otuki, M. F.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UNIVALI - Química

**Introdução:** Recentemente foi demonstrado que o extrato das folhas e dois flavonoides *Garcinia gardneriana* (Clusiaceae) apresentam atividade antiinflamatória sistêmica, inibindo edema de pata induzido por diferentes agentes (Castardo *et al.*, *J. Ethnopharmacol.*, 2008). Neste trabalho o objetivo foi verificar o efeito tópico antiinflamatório da *G. gardneriana* em modelos de inflamação da pele em camundongos. **Métodos:** Experimentos foram realizados utilizando o modelo de edema de orelha de camundongos Swiss machos (25-35 g, n=5-6). A espessura ( $\mu\text{m}$ ) da orelha foi medida com micrômetro digital (Great MT-045B) antes e 6 h após a aplicação do óleo de cróton (OC, 0,1 mg/orelha). Em seguida foi aplicado o extrato da casca, das sementes, das folhas da *G. gardneriana*, ou um dos biflavonóides Fukugetin e GB2a. O resultado foi expresso pelo aumento da espessura da orelha ( $\mu\text{m}$ ). Após 24 horas da indução do edema, foram coletadas amostras do tecido (6 mm) para avaliação da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO), indicativo de presença de neutrófilos. A quantificação de espécies reativas de oxigênio (ROS) foi feita através do ensaio da diclorofluoresceína em espectrofluorofotômetro de amostras das orelhas após tratamento com óleo de cróton.

**Resultados:** O extrato das folhas foi capaz de reduzir o edema de maneira dose-dependente,  $I_{\text{max}}$  de  $70\pm 3\%$  (1 mg/orelha) e  $DE_{50}$  0,33 mg/orelha e o aumento na atividade da MPO ( $I_{\text{max}}$   $76\pm 4\%$  dose 0,3 mg/orelha) induzidos pelo OC. Na avaliação tempo-resposta o extrato das folhas foi mais eficaz quando aplicado 60 min antes ou até 120 min após o óleo de cróton. Já o extrato da semente e casca foram menos eficazes ( $I_{\text{max}}$   $52\pm 5\%$  e  $60\pm 12\%$ , respectivamente) em reverter o edema de orelha causado pelo OC. Os compostos fukugetin e GB2a também reduziram o edema de orelha com  $DI_{50}$  de 0,18 mg/orelha e  $I_{\text{max}}$   $71\pm 4\%$  e  $DI_{50}$  0,22 mg/orelha e  $I_{\text{max}}$   $58\pm 6\%$ , respectivamente, na dose de 0,3 mg/orelha. Os dois compostos também inibiram a atividade da MPO com  $DI_{50}$  de 0,28 mg/orelha e 0,16 mg/orelha, e  $I_{\text{max}}$   $52\pm 6\%$  e  $64\pm 5\%$  para fukugetin e GB2a, respectivamente. Tanto o extrato das folhas quanto os dois biflavonoides mostraram capacidade de interferir na produção de ROS induzido pelo óleo de cróton em  $65,3 \pm 2,8$ ;  $78,8 \pm 1,39$  e  $83,2 \pm 4,0 \%$ , respectivamente para o extrato, o fukugetin e GB2a.

**Discussão:** Este estudo apresenta evidências que suportam a efetividade do extrato da *Garcinia gardneriana*, principalmente das folhas, para o tratamento tópico da inflamação cutânea. Além disso, os dois biflavonoides parecem participar de maneira importante no efeito do extrato, sendo que parte da resposta pode ser decorrente a atividade antioxidante do extrato e compostos. Apoio Financeiro: CNPq, Fundação Araucária, UFPR.

## 09.071

Avaliação preliminar do efeito imunossupressor do extrato aquoso bruto da casca de *Bowdichia virgilioides* Kunth Agra, I. K. R.<sup>1</sup>; Silva, J. P.<sup>1</sup>; Barros, B. S.<sup>1</sup>; Rodarte, R. S.<sup>1</sup>; Martins, M. A.<sup>2</sup>; Silva, P. M. R. e<sup>2</sup>; Frutuoso, V.<sup>2</sup>; Barreto, E.<sup>1</sup> <sup>1</sup>ICBS-UFAL; <sup>2</sup>FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

**Introdução:** Demonstramos anteriormente que o extrato aquoso da casca de *B. virgilioides* (EABv) possui atividade antinociceptiva e antiinflamatória (Silva e col., 39º SBFTE, 2007, p. 113). Neste estudo, estendemos nossas análises para avaliar a possível atividade do EABv sobre a proliferação de linfócitos e fagocitose *in vivo*. **Métodos:** Camundongos Swiss (18-22 g) receberam implante subcutâneo de algodão (10 mg) para induzir a proliferação dos linfócitos no linfonodo braquial. O tratamento intraperitoneal (i.p.) com salina, EABv (10 e 100 mg/kg) ou dexametasona (1 mg/kg) foi iniciado 24 h após o implante mantendo-se por 6 dias com uma injeção diária. No 7º dia após o implante, o linfonodo foi removido para avaliar o peso relativo e o número de linfócitos. Animais operados e que não receberam implante (SHAM) foram usados como controle. Em outro grupo, após 1 h do tratamento com EABv os animais receberam zimosan (2 mg/cav, i.p.). Após 4 h, a cavidade peritoneal foi lavada e o número total de leucócitos e a taxa de fagocitose de partículas de zimosan avaliados. Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. foram  $P < 0,05$  significantes. **Resultados:** O implante de algodão induziu um aumento no peso relativo do linfonodo braquial ( $0,86 \pm 0,01$  mg/g,  $p < 0,001$ ) quando comparado aos animais SHAM ( $0,54 \pm 0,02$  mg/g). O tratamento com EABv nas doses de 10 e 100 mg/kg preveniu o aumento no peso relativo do linfonodo de animais que receberam implante ( $0,55 \pm 0,02$  e  $0,42 \pm 0,03$  mg/g, respectivamente,  $p < 0,001$ ). Neste experimento, o tratamento com dexametasona inibiu aumento no peso relativo do linfonodo (para  $0,32 \pm 0,01$  mg/g,  $p < 0,001$ ). O total de linfócitos no linfonodo reduziu após tratamento com EABv nas duas doses avaliadas (de  $10 \pm 0,9 \times 10^6$  linfócitos para  $4,2 \pm 0,4 \times 10^6$  e  $4,4 \pm 0,5 \times 10^6$  linfócitos, respectivamente,  $p < 0,001$ ). No modelo de peritonite por zimosan, EABv nas doses de 10 e 100 mg/kg 1 h antes reduziu o influxo de leucócitos totais para a cavidade torácica ( $2,1 \pm 0,2 \times 10^6$  cél/cav e  $2,2 \pm 0,3 \times 10^6$  cél/cav, respectivamente,  $p < 0,001$ ) em relação ao grupo controle ( $3,1 \pm 0,2 \times 10^6$  cél/cav). Neste mesmo tempo, o EABv inibiu a taxa de fagocitose exibida pelos leucócitos ( $73,4 \pm 2,0\%$  e  $61,2 \pm 2,4\%$ , respectivamente,  $p < 0,01$ ) quando comparado ao grupo salina ( $86,8 \pm 0,9\%$ ). **Discussão:** Nossos resultados sugerem pela primeira vez um efeito imunossupressor do EABv. Estudos estão em andamento para esclarecer os mecanismos de ação e os princípios ativos responsáveis pela atividade estudada. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, IOC/Fiocruz

## 09.072

Avaliação da atividade antinociceptiva da casca de *Clusia nemorosa* em camundongos. Ferro, J. N. S.<sup>1</sup>; Silva, J. P.<sup>1</sup>; Farias, J. A. C de<sup>1</sup>; Barros, B. S.<sup>1</sup>; Agra, I. K. R.<sup>1</sup>; Oliveira F. M.<sup>2</sup>; Conserva, L. M.<sup>2</sup>; Barreto, E.<sup>3</sup> <sup>1</sup>ICBS-UFAL; <sup>2</sup>IQB-UFAL -; <sup>3</sup>UFAL - Genética e Biologia Molecular

**Introdução:** Demonstramos anteriormente que a fase hexânica do extrato etanólico das folhas de *Clusia nemorosa* Mey apresentou importante atividade antinociceptiva (Ferro e col., 39° SBFTE, 2007, p. 112). Estendendo nossas análises a outras partes da planta, no presente trabalho objetivamos avaliar a atividade antinociceptiva da fase hexânica do extrato etanólico da casca de *Clusia nemorosa* (FH) em camundongos. **Métodos:** Camundongos Swiss (18-22 g) de ambos os sexos foram tratados por via intraperitoneal (i.p.) com FH e avaliados nos modelos de dor induzido por ácido acético (0,6%), formalina (1%) e placa quente ( $54 \pm 0,5$  °C). No teste de contorção abdominal, foi contado de maneira cumulativa durante 10 minutos o número de contorções abdominais após injeção intraperitoneal (i.p.) de ácido acético. Os animais foram tratados com o FH (1-200 mg/kg, i.p.) 1 h antes do estímulo nociceptivo. Em outro experimento, a cinética de duração do efeito antinociceptivo foi determinado avaliando-se as contorções em diferentes tempos (30-480 min) após estímulo nociceptivo. No teste de formalina, os animais receberam injeção intraplantar de solução de formalina sendo registrado o tempo (s) que os animais permaneceram lambendo a pata estimulada no período de 0-5 min (1ª fase) e 15-30 min (2ª fase). No teste da placa quente, foi registrado o tempo de latência (s) que o animal levou para reagir à estimulação térmica 1 h após tratamento com FH. Os valores foram expressos como média  $\pm$  E.P.M.  $P < 0,05$  foram significantes. **Resultados:** Nas doses de 10 a 100 mg/kg, o tratamento com FH inibiu de maneira dose-dependente o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético (DE50 de 47 mg/kg). O efeito antinociceptivo comparado com o grupo salina ( $34,0 \pm 1,2$  contorções) iniciou em 30 min ( $19,75 \pm 1,8$  contorções,  $P < 0,05$ ) se mostrou máximo no tempo de 60 min ( $13,4 \pm 1,6$  contorções,  $P < 0,01$ ) e persistiu até 120 min ( $15,4 \pm 1,0$  contorções,  $P < 0,01$ ) após o tratamento com FH. No teste de formalina, apenas na 2ª fase o tempo de lambida da pata foi inibida por FH (47 mg/kg, i.p.) (de  $302,6 \pm 56,8$  s para  $95,0 \pm 31,87$  s,  $P < 0,05$ ). No modelo da placa quente, o tratamento com FH, nas doses testadas, não modificou o tempo de latência ao estímulo térmico. **Discussão:** Nossos dados sugerem que a fase hexânica do extrato etanólico da casca de *Clusia nemorosa* possui ação antinociceptiva, fenômeno semelhante ao observado com o extrato obtido a partir das folhas. Estudos estão em andamento para esclarecer os mecanismos de ação e os princípios ativos responsáveis pela atividade estudada. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, PIBIC/CNPq



### 09.073

Biological activities of *Polistes lanio lanio* (Hymenoptera, Vespidae) venom. da Silva, D. A.; Dias, L.; Rodrigues, M. A. P.; Hyslop, S. UNICAMP - Farmacologia

**Introduction:** The social paper wasp *Polistes lanio lanio* is common in southeastern Brazil, and lives in small colonies of 10-20 individuals. *Polistes l. lanio* venom causes edema in rodents but the other activities of this venom remain unstudied. In this work, we investigated the activity of *P. l. lanio* venom in invertebrate and vertebrate preparations and rat erythrocytes. **Methods:** Cockroach (*Leucophera maderae*) semi-isolated hearts (Klowden MJ *et al.*, *Toxicon* **30**, 295, 1992) were used to examine venom cardiotoxicity in insects. Right atria from rats were suspended in Krebs-Henseleit solution and the changes in atrial frequency (bpm) and isometric tension (g) in response to venom were recorded. Smooth muscle contractile activity was assayed in rat ileum mounted in organ baths containing Tyrode solution. Changes in tension in response to venom were recorded isotonicly. Washed erythrocytes were prepared from rat blood and resuspended in 0.01 M Tris-buffered saline (final concentration, 2%). Venom (in 20 ml) was incubated with cell suspension (240 ml) for up to 1 h at 37°C. Hemolysis ( $A_{520}$  nm) was expressed as a percentage of the total hemolysis (100%) obtained with Triton X-100. Phospholipase  $A_2$  activity was assayed colorimetrically. The results (mean $\pm$ S.E.M.) were compared statistically by using Student's *t*-test, with  $p < 0.05$  indicating significance. **Results:** *Polistes l. lanio* venom showed concentration (0.001-10 mg/ml)- and time-dependent  $PLA_2$  activity and hemolysis (10 mg of venom/ml produced 73 $\pm$ 12% hemolysis,  $n=8$ ); both activities were abolished by heating the venom for 5 min at 100°C. Venom (3-30 mg) caused significant ( $p < 0.05$ ) bradycardia in cockroach heart (10 mg of venom reduced heart rate from 107 $\pm$ 1 to 22 $\pm$ 11 beats/min after 7 min;  $n=8$ ), high doses produced cardiac arrest. In isolated ileum, venom (0.003-10 mg/ml) produced concentration-dependent contractions. In isolated atria, venom (1-10 mg/ml) did not alter heart rate but significantly ( $p < 0.05$ ) reduced contractile force after 45 min (from 0.15 $\pm$ 0.05 g to 0.07 $\pm$ 0.03 g with 10 mg of venom/ml;  $n=8$ ). **Conclusion:** *Polistes l. lanio* venom had high  $PLA_2$ . The parallelism between this activity (including thermolability) and hemolysis suggested the two activities were related. The contraction of rat ileum indicated the presence of venom components (probably peptides) active on non-vascular smooth muscle. The venom was cardiotoxic in insect and mammalian preparations. The cardiotoxicity in cockroach hearts suggests the presence of molecules with insecticidal activity. Apoio Financeiro: CNPq

#### 09.074

Avaliação da atividade antiedematogênica e antinociceptiva dos extratos hidroalcoólicos das folhas e galhos das espécies *Eugenia brasiliensis* Lamarck e *Eugenia beaurepaireana* (Kiaerskou) Legrand, em camundongos. Schünke, K. F.<sup>1</sup>; Della Giustina, J. T.<sup>1</sup>; Cabrini, D. A.<sup>2</sup>; Otuki, M. F.<sup>3</sup>; Pizollatti, M. G.<sup>4</sup>; Brighente, I. M. C.<sup>4</sup>; Magina, M. D.A.<sup>1</sup>; Beirith, A.<sup>5</sup> <sup>1</sup>FURB - Ciências Farmacêuticas; <sup>2</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>3</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>4</sup>UFSC - Química; <sup>5</sup>FURB - Ciências Naturais

**Introdução:** A *Eugenia brasiliensis* Lamarck, é conhecida popularmente como “grumixama”, “grumixameira”, “grumixaba”, “itapoiroti” e “cumbixaba” e a *Eugenia beaurepaireana* (Kiaerskou) Legrand, é conhecida como “ingabaú” e “guamirim-ferro”. São encontradas desde a região Nordeste do Brasil e se distribuem uniformemente, em toda a mata atlântica, desde o extremo norte ao extremo sul de Santa Catarina. São utilizadas na medicina popular para o tratamento de inflamações, dores, infecções urinárias e outros tipos de infecções. O presente estudo investiga os possíveis efeitos antiedematogênicos e antinociceptivos dos extratos hidroalcoólicos das folhas e galhos da *E. brasiliensis* e *E. beaurepaireana*, nos modelos de edema de pata induzido por carragenina e dor induzida pela formalina em camundongos.

**Métodos:** Foram utilizados camundongos suíços machos (30-40 g, seis por grupo) e os resultados expressos como média  $\pm$  e.p.m. Os extratos foram administrados por via oral nas doses de 100, 200, 400 ou 600 mg/kg, 1 hora antes dos experimentos, e avaliados em relação ao edema induzido pela carragenina (100  $\mu$ g/50  $\mu$ l), nos tempos de 30, 60, 120 e 240 min. Em outros grupos experimentais, com tratamento nas mesmas doses 1 h antes dos experimentos, foram avaliados em relação à primeira e segunda fase da nocicepção e edema induzidos pela formalina (2,5%) em camundongos. **Resultados:** Nenhum dos extratos inibiu, de forma significativa, o edema de pata induzido pela carragenina. No modelo de nocicepção induzida pela formalina, as inibições máximas ( $I_{max}$ ) obtidas com o extrato de *E. beaurepaireana* (Kiaerskou) Legrand para a primeira e segunda fase do modelo da formalina foram  $57,26 \pm 3,75\%$  (600 mg/kg),  $58,17 \pm 7,89\%$  (600 mg/kg), respectivamente. As  $I_{max}$  obtidas com o extrato de *E. brasiliensis* Lamarck para primeira e segunda fase do modelo da formalina foram,  $53,68 \pm 9,12\%$  (600 mg/kg),  $57,14 \pm 15,23\%$  (100 mg/kg). **Discussão:** Estes resultados demonstram que ambos os extratos inibiram a dor induzida pela formalina em ambas as fases. Novos experimentos serão realizados para aumentar o número da amostra e demonstrar claramente o efeito antiedematogênico e antinociceptivo destas duas espécies de *Eugenia*. Apoio Financeiro: FURB e FAPESC

## 09.075

An unprecedented cytotoxic lipidic amino acids mixture obtained from the zoanthid *Protopalythoa variabilis* collected at Paracuru Beach, Ceará State, Brazil. Wilke, D. V.<sup>1</sup>; Silva, W. M. B.<sup>2</sup>; Araújo, R. M.<sup>2</sup>; Jimenez, P. C.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>2</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>3</sup>UFC - ; <sup>4</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica

**Introduction:** Marine organisms are a great source of biologically active metabolites. Despite the young years of this research field, it has shown very promising pharmacological applications and has, this, awakened the industrial interest. This work performed a cytotoxicity-guided fractionation of a hydromethanolic extract obtained from the zoanthid *Protopalythoa variabilis* (PV-HM) collected at Paracuru beach (Ceará State, Brazil). **Methods:** The PV-HM (1:2, w/v) fractionation yielded 4 fractions: PV-Hex; PV-CHCl<sub>2</sub>; PV-EtAc and PV-MeOH. The cytotoxic activity of crude extract, fractions and sub-fractions were evaluated against 4 tumor cell lines: HL-60 (leukemia); MDA-MB-435 (melanoma); SF-295 (glyoblastoma) and HCT-8 (colon), by the colorimetric MTT assay after 72 h incubation (0.09-50 µg/mL). Cell growth was quantified by the ability of living cells to reduce MTT to a purple formazan product (read at 595 nm). The hemolytic activity was evaluated on mouse (*Mus musculus* Swiss) erythrocytes after 1, 2 and 4 h incubation (1.95-500 µg/mL). The supernatant containing hemoglobin was measured spectrophotometrically at 450 nm. A lipidic amino acids mixture was obtained from PV-Hex liquid/liquid (CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O) partitions. For structure elucidation, NMR, MS and IR analysis were performed. **Results and Discussion:** PV-HM showed high cytotoxicity, with IC<sub>50</sub> values ranging from 0.36 to 4.24 µg/mL. After the liquid/liquid purification, the cytotoxic activity was distributed among all fractions, being PV-Hex and PV-MeOH the most cytotoxic ones, with its IC<sub>50</sub> values ranging from 0.2 to 0.51 µg/mL and from 0.08 to 0.76 µg/mL, respectively. Comparative TLC showed some common spots in all fractions suggesting the presence of common compounds distributed among all fractions. Due the better activity and higher yielding the hexane fraction was chosen for further fractionation. A 2-amino-*n*-alkyl-carboxylic acids mixture was obtained after successive liquid/liquid partitions that showed IC<sub>50</sub> values of 0.13; 0.07; 0.05 µg/mL for HL-60, SF-295 and HCT-8 cells, respectively. Supported by: FINEP, CNPQ, InCB, CAPES and BNB.

## 09.076

Estudo da ação de extratos vegetais na motilidade intestinal e esvaziamento gástrico.

Potrich, B. P.<sup>1</sup>; Allemand, A.<sup>1</sup>; Werner, M. F. P.<sup>2</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Farmacologia

**Introdução:** As plantas medicinais *Taraxacum officinale* Weber, *Coix lacryma* L. e *Achillea millefolium* L são conhecidas popularmente como dente-de-leão, conta e mil-folhas, sendo utilizadas por suas propriedades antidiarréicas e digestivas. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito dos extratos brutos etanólicos (EBEs) dessas plantas sobre a motilidade intestinal e o esvaziamento gástrico. **Métodos:** Camundongos Swiss fêmeas (30-40 g; N=7), em jejum de 6-9 h, foram tratados com veículo (0,1 ml/10 g), EBEs (100, 300 e 1000 mg/kg, vo ou 10, 30 e 100 mg/kg ip), atropina (3 mg/kg, sc), metoclopramida (30 mg/kg, vo), neostigmina (20 mg/kg, sc) e vermelho de fenol tempo zero (T0= sacrificados imediatamente após a administração do vermelho de fenol). Após 1 h, foi administrado o vermelho de fenol 1,5% em carboximetilcelulose 0,05% vo, (exceto para os animais do grupo T0) e após 15 min os animais foram mortos. Para o esvaziamento gástrico, o estômago foi triturado, o homogenato centrifugado (1500 rpm, 15 min) e 600 µl do sobrenadante foi misturado com 600 µl de NaOH 0,025 N para leitura espectrofotométrica a 560 nm. Para a medida do trânsito intestinal, o intestino delgado foi esticado, sendo determinado o comprimento total do intestino e a distância percorrida pelo marcador (a última porção com no mínimo 1 cm). **Resultados:** O pré-tratamento com os EBEs de *Taraxacum officinale* Weber, *Coix lacryma* L. e *Achillea millefolium* L., nas doses 100, 300 e 1000 mg/kg vo não modificaram a motilidade intestinal nem o esvaziamento gástrico. No entanto, todos os três EBEs apresentaram ações farmacológicas quando administrados por via ip. O EBE da *Taraxacum officinale* (100 mg/kg, ip) diminuiu a velocidade do trânsito intestinal (de 46,62 ± 8,37 para 11,22 ± 1,41%) e reduziu o esvaziamento gástrico (de 63,99 ± 10,82 para 28,88 ± 3,45%). O EBE da *Coix lacryma* nas doses de 30 e 100 mg/kg ip diminuiu a velocidade do trânsito intestinal (de 44,37 ± 6,37% para 16,12 ± 3,05 e para 14,78 ± 2,39%, respectivamente) e na dose de 30 mg/kg, diminuiu o esvaziamento gástrico (de 63,99 ± 10,82 para 30,86 ± 3,91%). O EBE da *Achillea millefolium* nas doses de 10, 30 e 100 mg/kg ip, diminuiu a velocidade do trânsito intestinal (de 50,49 ± 4,97% para 16,62 ± 1,08, 22,44 ± 2,30 e 13,91 ± 2,11%, respectivamente), porém nenhuma dessas doses alterou a motilidade gástrica. **Discussão:** Todas essas plantas têm em comum a indicação popular como antidiarréicas. Porém os três EBEs testados apresentaram resultados significativos apenas quando utilizamos a via intraperitoneal como via de administração, inviabilizando a continuidade do estudo com os EBEs. Apoio Financeiro: CAPES

## 09.077

Atividade anti-*Helicobacter pylori in vivo* de extrato e fração de *Calophyllum brasiliense* camb. Souza, M. C.<sup>1</sup>; Beserra, A. M. S. S.<sup>1</sup>; Real, V. V.<sup>2</sup>; Martins, D. C.<sup>4</sup>; Silva, R. M.<sup>1</sup>; Martins, D. T. O.<sup>5</sup> <sup>1</sup>UFMT - Ciências Básicas em Saúde; <sup>2</sup>FAMEV - Hospital Veterinário; <sup>4</sup>UFMT - Anatomia Patológica

**Introdução:** A fração diclorometânica (DCM<sub>2</sub>) e extratos de *C. brasiliense* são conhecidos por sua atividade antiúlcera. O *Helicobacter pylori* (*Hp*) é o principal agente etiológico da úlcera péptica, sozinho ele causa pequeno ou nenhum efeito na mucosa gástrica intacta de ratos, porém é capaz de retardar a cicatrização de úlceras pré-existentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito anti-*Hp in vivo* do extrato hidroalcoólico (EH) e DCM<sub>2</sub> de *C. brasiliense*.

**Método:** Para obtenção do extrato hidroalcoólico, a entrecasca foi pulverizada e macerada por 7 dias em água-etanol (1:5 p/v), filtrada e concentrada em rotaevaporador A DCM<sub>2</sub> foi obtida por fracionamento do extrato hexânico em CC de gel de sílica eluída com diclorometano. Ratos Wistar (n=6-10) ulcerados por ácido acético 20% (30 µl) foram inoculados v.o. com *H. pylori* (ATCC 43504) 9x10<sup>8</sup> por 7 dias, tratados a partir do 3º dia de indução da úlcera, por 14 dias com EH, DCM<sub>2</sub> e padrão. No 17º dia, foram sacrificados para análises do índice de úlcera (IU), da urease (Probac) e histopatológica (HE e Giemsa). **Resultados:** Os IU dos grupos sham-1, controle-2, ulcerado-3 e ulcerado + *Hp*-4 foram de 1,3±0,5; 1,3±0,3; 15±5 e 85±5, respectivamente. O tratamento do grupo 4 com 50, 100 e 200 mg/kg de EH, 100 e 200 mg/kg de DCM<sub>2</sub> e 50 mg/kg de amoxicilina+25 mg/kg de claritromicina+20 mg/kg de omeprazol resultaram em redução (p<0,001) do IU conforme se segue: 23±11; 23±8; 14±5; 15±5; 10±3; e 1,8±0,07, respectivamente. Todos os animais dos grupos 1; 2 e 3 tiveram teste de urease negativo, enquanto os do grupo 4 foram urease positivos; O tratamento com EH aumentou a negatividade no teste de urease, atingindo 75% na dose de 200 mg/kg. Com DCM<sub>2</sub>, a negatividade no teste de urease foi maior que no grupo padrão (70%), atingindo 89% na dose de 200 mg/kg. No histopatológico não foi observada a presença de *Hp* nos grupos 1; 2 e 3 assim como no grupo DCM<sub>2</sub>, enquanto que no grupo 4 o *Hp* estava presente em todas as análises. O tratamento com EH reduziu a presença de *Hp* em 83% na dose de 200 mg/kg. Os grupos 1 e 2 não apresentaram alterações morfológicas, enquanto 17% dos animais do grupo 3 apresentaram inflamação leve e 100% do grupo 4 inflamação leve a moderada, sendo que 50% deste apresentou infiltrado neutrofílico. Nos grupos que receberam EH e DCM<sub>2</sub> verificou-se redução do processo inflamatório, atingindo 67 e 83 % nas doses de 200 mg/kg, respectivamente. **Discussão:** Trabalhos anteriores mostraram o efeito anti-*Hp in vitro* para o EH e DCM<sub>2</sub>. Esse estudo mostra que o EH e a DCM<sub>2</sub> são ativos contra *Hp* também *in vivo*, sendo DCM<sub>2</sub> mais ativa em ambos os modelos. Tais resultados suportam que o efeito antiúlcera de *C. brasiliense* deve-se em parte por sua ação anti-*Hp*. Apoio Financeiro: FAPEMAT; CPP; CAPES; FIOCRUZ; SES-MT.

## 09.078

Atividade gastroprotetora do extrato bruto etanólico da *Achillea millefolium* L. Potrich, B. P.<sup>1</sup>; Allemand, A.<sup>1</sup>; Freitas, C. S.<sup>1</sup>; Baggio, C. H.<sup>1</sup>; Werner, M. F. P.<sup>2</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup>; Gasparotto Junior, A.<sup>3</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Farmacologia; <sup>3</sup>UNIPAR - Farmacologia

**Introdução:** A planta medicinal *Achillea millefolium* L. é conhecida popularmente como mil-folhas, sendo utilizada por sua propriedade gastroprotetora. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito gastroprotetor do extrato bruto etanólico (EBE) dessa planta. **Métodos:** Ratos Wistar fêmeas (n=6), foram submetidos à indução de úlcera crônica com ácido acético 80% segundo método utilizado por Wallace, *Am J Physical Gastrointest Liver Physiol*, 279, 341, 2000. No terceiro dia após a indução da úlcera, os animais foram tratados com veículo, omeprazol (40 mg/kg), e EBE nas doses 10, 30 e 100 mg/kg vo durante 3 dias duas vezes ao dia. Os animais foram sacrificados, os estômagos retirados, abertos e esticados para a mensuração da área da úlcera através do programa *Image tool* 3.0. Foram retiradas a área lesada e área não lesada para posterior avaliação dos grupos sulfidrílicos não protéicos (GSH) e mieloperoxidase (MPO). Para determinação do GSH, a região glandular da mucosa foi homogeneizada com tampão, o homogenato foi misturado com ácido tricloroacético (12,5%) e então centrifugado. O sobrenadante foi misturado com reagente de cor (DTNB) e a absorbância lida em 415 nm. Para avaliação da MPO, uma alíquota do homogenato foi misturado com 1 ml de tampão e centrifugado. O precipitado foi ressuscitado com tampão e hexadecyltrimethylammonium (HTAB) e centrifugado. O sobrenadante foi adicionado aos tampões e a reação foi iniciada com tetramethylbenzidine (TMB, 30 min a 37°C). Após, a reação foi parada com adição de acetato de sódio e a absorbância foi lida em 620nm. **Resultados:** O EBE da *Achillea millefolium* L. na dose de 30 mg/kg vo diminuiu a área da lesão de  $46,20 \pm 9,24$  para  $23,37 \pm 2,78\%$  quando comparado ao grupo controle. Os níveis de GSH foram: Controle:  $131,1 \pm 41,21$  e EBE:  $540 \pm 27,16$  mg de GSH/g de tecido. Porém essa mesma dose não alterou a atividade da MPO quando comparado com o grupo controle. **Discussão:** O EBE da *Achillea millefolium* L. é capaz de diminuir a lesão gástrica induzida por ácido acético e de aumentar os níveis de GSH, podendo estar envolvida na proteção da lesão por esta via de ação, dentre outras que ainda serão investigadas. Apoio Financeiro: Capes

## 09.079

SK<sub>Ca</sub> and K<sub>ATP</sub> are involved in the spasmolytic action of labdane-302 on guinea pig ileum. Macedo, C. L.<sup>1</sup>; Cavalcante, F. de A.<sup>2</sup>; Travassos, R. A.<sup>1</sup>; Santos, R. F.<sup>1</sup>; Martins, I. R. R.<sup>1</sup>; Tavares, J. F.<sup>1</sup>; Silva, M. S.<sup>1</sup>; Silva, B. A. da<sup>1</sup> <sup>1</sup>DCF-LTF-UFPB; <sup>2</sup>ICBS-UFAL

**Introduction:** *Xylopia langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) is popularly known as "pimenteira da terra". The stem-bark of this species yielded a labdane-type diterpene identified as 8(17),12E,14-labdatrien-18-oic acid (labdane-302). Previous reports showed that the labdane-302 presents a relaxant effect in guinea pig trachea by modulation large conductance calcium- and voltage-activated K<sup>+</sup> channels (BK<sub>Ca</sub>) (RIBEIRO *et al.*, 2007a), and rat aorta by modulation of the voltage-gated K<sup>+</sup> channels (K<sub>v</sub>) and inward rectifier K<sup>+</sup> channel (K<sub>ir</sub>) (RIBEIRO *et al.*, 2007b). Also other studies showed that the relaxant effect of labdane-302 on guinea pig ileum depended of the blockade of the voltage-gated calcium channels (Ca<sub>v</sub>-L) (MACEDO *et al.*, 2007). We decided to investigate the involvement of the K<sup>+</sup> channels and participation of the pathway cyclic nucleotides-phosphodiesterases (PDE) in the relaxant effect of labdane-302 in guinea pig ileum. **Methods:** ileum was suspended in organ bath containing modified Krebs solution (pH 7.4; 37 °C) and gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture. Isometric contractions were registered through force transducer coupled to an amplifier, which was connected to a microcomputer. **Results:** The relaxant potency of labdane-302 (EC<sub>50</sub> = 1.5 ± 0.3 × 10<sup>-5</sup> M) was decreased in the presence of CsCl, a non-selective K<sup>+</sup> channels blocker (CE<sub>50</sub> = 3.5 ± 0.6 × 10<sup>-5</sup> M), suggesting involvement of the K<sup>+</sup> channels in the spasmolytic effect of the labdane-302. To verify which subtypes of K<sup>+</sup> channels could be involved we used selectives blockers of these channels. The 4-aminopyridine, a selective blocker of K<sub>v</sub> and TEA<sup>+</sup> 1 mM, a selective blocker of the BK<sub>Ca</sub> did not change the relaxant effect of labdane-302 suggests that K<sub>v</sub> and BK<sub>Ca</sub> are not involved. On the other hand, the concentration-response curve induced by labdane-302 was shifted to the right in the presence of apamine, a selective blocker of the small-conductance calcium-activated K<sup>+</sup> channels (SK<sub>Ca</sub>) (EC<sub>50</sub> = 3.3 ± 0.4 × 10<sup>-5</sup> M) or glibenclamide, a selective blocker of the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels (K<sub>ATP</sub>) (EC<sub>50</sub> = 3.2 ± 0.3 × 10<sup>-5</sup> M), suggesting the involvement of SK<sub>Ca</sub> and K<sub>ATP</sub> in the spasmolytic action induced by labdane-302. In the presence of aminophylline, a non-specific inhibitor of PDE, the potency of labdane-302 was increased (EC<sub>50</sub> = 0.4 ± 0.03 × 10<sup>-5</sup> M), which indicate participation of cyclic nucleotides. **Discussion:** These results suggest that the relaxant effect of labdane-302 on guinea pig ileum, involves the activation of the SK<sub>Ca</sub> and K<sub>ATP</sub> with the consequent blocking of Ca<sub>v</sub>-L and a possible involvement of the cyclic nucleotides-PDE pathway. Apoio Financeiro: CAPES CNPq and LTF/UFPB

## 09.080

Investigação da atividade farmacológica, bioquímica e toxicológica do extrato hidroalcoólico das folhas da *Vitex agnus castus* L. em modelos animais *in vivo*. Sousa, J. A.<sup>1</sup>; Meirelles, L. M. A.<sup>2</sup>; Almondes, J. G. S.<sup>1</sup>; Silva, J. D. P.<sup>3</sup>; Martins, M. C. C.<sup>4</sup>; Cavalcanti, P. M. da S.<sup>5</sup>; Galvão, S. M. P.<sup>6</sup> <sup>1</sup>FACIME-UESPI -; <sup>2</sup>UFPI - Bioquímica e Farmacologia; <sup>3</sup>UFPI - Plantas Medicinais; <sup>4</sup>UFPI - Biofísica e Fisiologia; <sup>5</sup>UFPI - Bioquímica e Farmacologia; <sup>6</sup>UESPI - Ciências Médicas

**Introdução:** A *Vitex agnus-castus* L. é uma planta utilizada contra reumatismo, diarreia, gastralgia e disfunção da função sexual masculina e feminina e como tônico e afrodisíaca no Piauí. Evidenciamos que o extrato hidroetanólico da *V. agnus castus* (EHEVAC) apresentou efeito estimulante geral em camundongos (ALVES e cols, SBFTE 2004), reverteu o prejuízo de memória observado em camundongos idosos e apresentou atividade antioxidante "in vitro" (MEIRELLES e cols, VII SPRC "Cérebro e Pensamento", 2007). LIU *et al.* (*J. Agric. Food. Chem.*, v. 49, p. 2472, 2001) e LUCKS *et al.* (*Ther. Nurs. Midwifery.*, v. 8, p. 148, 2002) demonstraram que o extrato da *Vitex agnus-castus* apresenta um componente estrogênico. O objetivo do nosso trabalho foi investigar o efeito do EHEVAC sobre a estereotipia induzida pela apomorfina, o tremor e cromodacriorréia induzidos pela oxotremorina, a ação antioxidante "in vivo", o ciclo estral em animais de laboratório. **Métodos:** O EHEVAC a 10% foi preparado pela técnica de turbólise e liofilizado. Utilizou-se ratos machos Wistar (3-5 meses) para avaliar a influência do tratamento agudo da EHEVAC sobre: 1) a estereotipia induzida pela apomorfina, observando-se a latência, o tempo e os graus de estereotipia dos 5 aos 60 min. do seu início, segundo TRONCONE *et al.* (*Psychopharmacology*, v. 94, p. 79, 1988); 2) o tremor nos intervalos de 5-10, 25-30 e 55-60 minutos e cromodacriorréia aos 20 minutos após indução por oxotremorina, segundo SANTOS & CARLINI, (*Pharmacol. Biochem. Behav.*, v. 29, p. 217, 1988). Utilizou-se ratas Wistar (3 meses) para avaliar a influência do tratamento do EHEVAC por 60 dias sobre: 1) a ação antioxidante em cérebro "in vivo" pelo teste do malondialdeído; 2) sobre o ciclo estral avaliados pelo esfregaço vaginal até 16 dias e entre 45 e 60 dias de tratamento. No final do tratamento as ratas foram sacrificadas e os órgãos foram retirados, pesados e guardados em formol 10% e o sangue foi centrifugado e no soro foi avaliado triglicérides e glicose. **Resultados e Discussão:** O tratamento com o EHEVAC não alterou a latência e a estereotipia induzida pela apomorfina, reduziu o grau de tremor induzido pela oxotremorina (Md=3), em relação ao controle (Md=4) (Mann-Whitney, p=0,034), mas não houve alteração da cromodacriorréia. O ganho de peso de ratas tratadas com EHEVAC por 60 dias foi maior em relação ao controle, entretanto, não houve alteração no peso dos órgãos, níveis de triglicérides e glicose e na atividade antioxidante em cérebro "in vivo". Foi observado redução da duração do ciclo estral e do número de ciclo em ratas tratadas com EHEVAC, indicando possível atividade estrogênica. Apoio Financeiro: UESPI; UFPI.



## 09.081

Avaliação da possível ação estimulante das cascas e folhas de uma planta medicinal brasileira (catuaba) em modelos animais *in vivo*. Almondes, J. G. S.<sup>1</sup>; Silva, J. D. P.<sup>2</sup>; Sousa, J. A.<sup>1</sup>; Meirelles, L. M. A.<sup>2</sup>; Silva, M. A. P.<sup>3</sup>; Cavalcanti, P. M. da S.<sup>4</sup>; Galvão, S. M. P.<sup>1,1</sup> FACIME-UESPI -; <sup>2</sup>UFPI - Plantas Medicinais; <sup>3</sup>URCA - Ciências Biológicas; <sup>4</sup>UFPI - Bioquímica - Farmacologia

**Introdução:** A *Erythroxylum vacciniifolium* Mart. (pau de catuaba) é utilizada pela população em geral como tônica, estimulante do Sistema Nervoso Central (SNC) e afrodisíaca. Até o momento, nenhum estudo científico foi conduzido para investigar a ação psicoestimulante da *E. vacciniifolium*. Assim sendo, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos farmacológicos do extrato etanólico das cascas (ECEV) e das folhas (EFEV) da *Erythroxylum vacciniifolium* Mart. pelo uso agudo em camundongos ou ratos, através dos seguintes testes: *Screening* farmacológico (SF); Atividade motora (AM); Tempo de sono induzido por tiopental sódico (TSP); Estereotipia induzida pela apomorfina. **Métodos:** Utilizou-se camundongos machos Suíços (3 meses). No SF foram avaliados doses crescentes do ECEV e EFEV (10 à 1000 mg/kg, via ip. ou oral) quanto a presença ou ausência de 22 sinais, p. ex. AM, "writhes". A AM foi avaliada em caixas de acrílico 30x30 cm, divididas em 9 quadrados de 10x10cm por 60 min. do tratamento com 50 e 100 mg/kg (oral). O TSP foi avaliado após 30 minutos do tratamento com 50 ou 100 mg/kg (oral). Utilizou-se ratas Wistar (3 meses) para avaliar a influência do tratamento agudo do ECEV, EFEV e da oxotremorina (agonista colinérgico) sobre a estereotipia induzida pela apomorfina, observando-se a latência, o tempo e os graus de estereotipia dos 5 aos 60 minutos do seu início, segundo TRONCONE *et al.* (*Psychopharmacology*, v. 94, p. 79, 1988). **Resultados e Discussão:** No SF houve redução da AM, "writhes" e canto de gaiola com ECEV (10 à 100 mg/kg; ip. e oral), salivação, dificuldade respiratória, perda do reflexo de postura, diminuição do tônus muscular, enrijecimento das patas traseiras e óbito até 30 min. (1000 mg/kg ip. e oral). No SF o EFEV reduziu a AM, "writhes", canto de gaiola, aumento de micção e defecação (10 à 1000 mg/kg; ip. e oral), tremor e salivação (100 mg/kg oral). Na avaliação da AM em caixas só houve redução da AM com o ECEV. O tratamento em camundongos com o ECEV não alterou o TSP, mas o EFEV reduziu o TSP de 275,2 ± 77,3min (cont.) para 143,3 ± 80,2\* (50 mg/kg) e 166,0 ± 55,2\* (100 mg/kg) (Teste de Duncan, p£ 0,05). Ratas tratadas agudamente com o ECEV, EFEV ou oxotremorina foi observado aumento na latência para aparecimento da estereotipia induzida pela apomorfina e redução no tempo total de estereotipia (ANOVA de 1 via, p£ 0,05). O tratamento com EFEV ou oxotremorina reduziu o grau de estereotipia aos 5 minutos e de 5 aos 60 minutos, respectivamente, quando comparados com os controles. Os dados demonstram a possível participação colinérgica sobre a redução da latência, grau e tempo de estereotipia induzida pela apomorfina em ratos tratados com o EFEV. Apoio Financeiro: UESPI; UFPI.

## 09.082

Efeito do tratamento com o óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe sobre a resposta inflamatória *in vivo* na fásia espermática de ratos. Nogueira de Melo, G. A.; Fonseca, J.P.; Biatto, F. P. ; Farinha, T. O.; Dantas, J. A.; Bersani-Amado, C. A.; Cuman, R. K. N. UEM - Farmácia e Farmacologia

**Introdução:** A espécie vegetal *Zingiber officinale* Roscoe é conhecida popularmente como gengibre. Os rizomas desta planta tem sido utilizados como especiaria e na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades, desde o desconforto gastrintestinal até processos infecciosos, existindo relatos na literatura sobre sua atividade antiinflamatória. Neste trabalho foi investigado o efeito do tratamento com o óleo essencial de Gengibre (OEG) sobre o comportamento celular em vasos da microcirculação na fásia espermática de ratos. O comportamento celular durante a resposta inflamatória foi avaliado através do número de leucócitos “rolling” e a aderência destas células ao endotélio vascular. **Métodos:** Ratos machos da linhagem Wistar (220-240g) foram anestesiados com hidrato de cloral (500 mg/kg; s.c.). A fásia espermática interna foi exteriorizada e a microcirculação observada por um microscópio e as imagens foram captadas e gravadas através de software para captação de imagens e gravadas em microcomputador acoplado ao sistema. O número de leucócitos “rolling” e aderidos à parede do vaso foram determinados 2 horas após a administração de carragenina (100µg) na bolsa escrotal. Os animais foram tratados com o OEG (200, 500 e 700 mg/kg) ou indometacina (IND) (5 mg/kg; *per os*) 30 minutos antes da injeção de carragenina. Os dados foram avaliados por Análise de Variância (Anova) seguida do teste de Tukey. **Resultados:** Duas horas após o estímulo inflamatório houve uma redução significativa no número de leucócitos “rolling” em animais tratados com OEG nas diferentes doses (**Controle:**190±9; **OEG<sub>200</sub> mg/kg:**141±7\*; **OEG<sub>500</sub> mg/kg:**94±8\*\*; **OEG<sub>700</sub> mg/kg:**131±18\*; **IND:**122±10\*\*; \*p<0,05/\*\*p<0,001). Quanto ao número de leucócitos aderidos, o tratamento com OEG promoveu uma redução da aderência celular nos animais tratados, quando comparados aos obtidos no grupo controle (**Controle:** 18±1; **OEG<sub>200</sub> mg/kg:**13±2\*; **OEG<sub>500</sub> mg/kg:**10±1\*\*; **OEG<sub>700</sub> mg/kg:**10±1\*; **IND:**11±1\*\*; \*p<0,05/\*\*p<0,001). **Discussão:** Os resultados preliminares obtidos demonstraram que o óleo essencial de Gengibre apresenta efeito sobre o comportamento dos leucócitos durante o processo inflamatório, promovendo uma redução no número de leucócitos *rollers* e na aderência celular, com conseqüente efeito sobre a quimiotaxia. Apoio Financeiro: CAPES/CNPq/FADEC

### 09.083

Efeito do tratamento com acupuntura tradicional (manual) sobre a nocicepção induzida por carragenina em patas de ratos. Wetzel, G.<sup>1</sup>; Vieira, L. A. T.<sup>1</sup>; Rulka, E. O.<sup>1</sup>; Ferreira, M. L. P. K.<sup>1</sup>; Beirith, A.<sup>2</sup><sup>1</sup>FURB - Fisioterapia; <sup>2</sup>FURB - Ciências Naturais

**Introdução:** A *Acupuntura* é um dos procedimentos terapêuticos que compõem a Medicina Tradicional Chinesa. Tem origens muito remotas, estima-se que cerca de 4.500 anos, pelo menos, conforme indicam os registros históricos. Diversos artigos publicados recentemente em revistas de circulação internacional demonstram aplicações da Acupuntura nas mais variadas patologias. **Objetivo:** Determinar a eficácia do tratamento com Acupuntura Tradicional (Manual) nos pontos correspondentes ao E36 (Zusanli) e B60 (Kunlun), mapeados em ratos, sobre a nocicepção induzida por carragenina, em ratos. **Metodologia:** Foram utilizados ratos Wistar machos (250-300 g, em número de seis por grupo) e os resultados expressos como média  $\pm$  e.p.m. O modelo utilizado foi da nocicepção e induzida por carragenina (300  $\mu$ g/100  $\mu$ l). Para a avaliação do efeito antinociceptivo foram utilizados os filamentos de von Frey 0.4, 1.0, 2.0, 4.0 e 8.0 g, nos intervalos de tempo de 4, 24 e 48 h após a aplicação de carragenina, em busca de resposta de retirada da pata esquerda traseira ao estímulo mecânico. Os monofilamentos foram aplicados em intervalos de 2 s em locais levemente diferentes da superfície plantar das patas. Uma resposta positiva de retirada foi considerada válida somente quando a pata foi completamente removida da plataforma. A frequência de resposta positiva foi calculada após 10 aplicações dos filamentos. As medidas basais foram obtidas antes da aplicação de carragenina. Os ratos submetidos à Acupuntura (3 h após a administração de carragenina) foram envolvidos e acomodados em tela plástica, e a pata tratada com carragenina permaneceu exposta, facilitando o procedimento nos pontos ipsilaterais. A medida das agulhas de Acupuntura utilizadas é 0,17 x 7,0 mm (Suzhou Huanqiu Acupuncture Medical Appliance Co. Ltd., China). **Resultados:** A Acupuntura apresentou efeito antinociceptivo quando avaliada em relação aos filamentos de von Frey do seguinte modo: 1.0 g no intervalo de 4 h, 2.0, 4.0 e 8.0 g em todos os intervalos de tempo, quando realizada 3 h após a aplicação de carragenina. **Conclusão:** Os resultados do presente estudo nos permitem concluir que a Acupuntura Manual pode ser considerada um recurso adicional a ser usado para o tratamento e controle da nocicepção, quando realizada 3 h após a aplicação de carragenina. Apoio Financeiro: FURB

#### 09.084

Modelagem farmacodinâmica da atividade antihiperlipicemiante da farinha da casca de maracujá em ratos diabéticos

Braga A.; Taciana, P. M.; Araújo, B. V. URI - Ciências da Saúde

**Introdução:** Atualmente os subprodutos das indústrias produtoras de suco de maracujá, como casca e sementes, vêm despertando o interesse de pesquisadores no seu reaproveitamento (Oliveira, *Rev. Bras. Frutic*, v.22, p.101, 2002). A aplicação da casca está sendo intensivamente estudada, por ser rica em fibras solúveis como pectina e minerais como cálcio, ferro e fósforo além de possuir baixo teor de lipídeos, carboidratos e proteínas. **Métodos:** Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da URI (#082-4TCA-04). Utilizaram-se ratos Wistar machos diabéticos, induzidos por aloxano (Carvalho, *Acta Cir Bras*, v.118, p.60, 2003). Os animais foram alocados em 4 grupos (n = 9): grupo diabético controle, grupo diabético tratado com 20 mg/kg, 40 mg/kg ou 160 mg/kg. As amostras sanguíneas foram coletadas da veia lateral da cauda e a glicemia foi determinada por fita com auxílio de um glucômetro Prestige IQ em 0, 2, 4 e 6 horas após o tratamento via oral. A análise estatística foi realizada por ANOVA. A modelagem farmacodinâmica foi realizada com um modelo de  $E_{m\acute{a}x}$  modificado (Byrom, *Br J Clin Pharmac*, v.38, p.433, 1994). **Resultados:** Analisando os dados observou-se homogeneidade dos níveis glicêmicos no tempo zero em todos os grupos experimentais. Após duas e quatro horas, os grupos tratados com 20, 40 e 160 mg/kg apresentaram redução glicêmica, porém no tempo seis horas somente o grupo diabético tratado com 160 mg/kg continuou a apresentar diminuição da glicemia. As doses de 40 e 160 mg/kg demonstraram efeito significativo em relação ao grupo controle ( $P = 0,140$ ). O modelo de  $E_{m\acute{a}x}$  possibilitou a análise farmacodinâmica do nível glicêmico em função da dose, e os parâmetros calculados foram: dose para exercer 50 % do efeito máximo ( $ED_{50}$ ) = 23,61 mg/kg, Redução da glicemia máxima ( $E_{m\acute{a}x}$ ) = 58,41 % e um coeficiente de determinação ( $r$ ) = 0,969. **Discussão:** O provável efeito antihiperlipicemiante da fibra presente na casca de maracujá apresentou um perfil dose dependente. Este fato pode ser explicado pelo seu mecanismo de ação, que envolve a formação de um filme altamente viscoso na luz intestinal, o qual diminui a superfície de contato dos alimentos ingeridos com a mucosa gastrintestinal, dificultando a absorção de glicose (Sartorelli, *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.50, p.415, 2006). A viscosidade da fibra solúvel pode ainda dificultar a ação da amilase pancreática, além de induzir um retardamento gástrico e uma maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) provindos da fermentação da pectina, os quais podem auxiliar na redução glicêmica. Os resultados apontam para um excelente potencial redutor de glicemia presente nas fibras da casca de maracujá.

## 09.085

Triagem antiedematogênica de plantas medicinais do cerrado mato-grossense. Ribeiro, R. V.; Silva, R. M.; Lima, J. C. S.; Oliveira, C. R.<sup>1</sup>; Martins, D. T. O. UFMT - Ciências Básicas em Saúde

**Introdução:** O Cerrado é a segunda maior formação vegetal brasileira, com cerca de 10 mil espécies de vegetais e rica diversidade étnico-cultural (índios e não-índios), sendo o sistema ambiental brasileiro que mais sofreu alteração com a ocupação humana. Esse trabalho teve como objetivo realizar uma triagem antiedematogênica de plantas que ocorrem no Cerrado mato-grossense e ainda pouco investigadas. **Métodos:** Para obtenções dos extratos hidroalcoólicos, os farmacógenos de cada planta foram secos, triturados, macerados, por sete dias, em solução hidroetanólica 75% (1:10, p/v) e concentrados em rotaevaporador até eliminação do solvente. Ratas Wistar (n= 6/grupo) foram submetidas a jejum por 18 h, com livre acesso à água de torneira. Uma hora antes da injeção intradérmica de 100 µL de carragenina 1% na pata traseira esquerda, os animais receberam por via oral, o 10 ml/kg de água destilada ou goma arábica 2% (veículo), indometacina (10 mg/kg) e 20 e 200 mg/kg de extratos hidroetanólicos 75% das entrecascas de *Xylopia aromatica* (EHXa), *Eriotheca gracilipes* (EHEg) e *Strychnos pseudoquina* (EHSp), das folhas de *Oxalis hirsutissima* (EHOH), *Duguetia furfuracea* (EHDf) e *Palicourea rigida* (EHPr) e do rizoma de *Macrosiphonia velame* (EHMv). A pata direita contralateral recebeu igual volume de salina 0,9% e o edema foi mensurado em Pletismógrafo (Ugo Basile), nos tempos de 0, 1, 2, 3 e 4 horas após a injeção do agente flogístico. **Resultados.** Os EHPr e EHMv, na dose de 20 mg/kg, foram os únicos a reduzirem (p<0,05) o edema de pata no pico da resposta inflamatória (3ª h), em 29,5% e 21,6%, respectivamente. O EHSp (20 e 200 mg/kg) reduziu o edema na 1ª h, em 18,3% (p<0,05) e 21,6% (p<0,01), respectivamente. O EHEg (20 mg/kg) reduziu o edema apenas na 2ª h (35,8%, p<0,05). Contrariamente, o EHXa (200 mg/kg) aumentou o edema na 1ª h, em 25% (p<0,01). Os EHOH e EHDf mostraram-se inativos nesse modelo. A indometacina foi ativa em todos os tempos, atingindo na 3ª h 49% de inibição do edema (p<0,001). **Discussão:** O edema de pata por carragenina em ratos é um modelo bifásico, com vários mediadores atuando em seqüência para produzir a resposta inflamatória. Na fase inicial (0-1 h) ocorre liberação de histamina serotonina e bradicinina e a fase posterior (1- 6 h) está correlacionada com a produção de prostaglandinas, ativação da COX<sub>2</sub> e liberação de NO. De acordo com os resultados obtidos os EHPr e EHMv parecem atuar na fase final da resposta inflamatória induzida por carragenina, sugerindo suas potencialidades para prosseguir-se com os estudos antiinflamatórios. Apoio Financeiro: CAPES e Centro de Pesquisa do Pantanal - CPP.

**09.086**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.087

Influence of fast-twitch skeletal muscle degeneration/ regeneration induced by *Bothrops jararacussu* venom and heparin treatment on the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase and Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity and protein expression. Amaral, L. S.<sup>1</sup>; Schaffazick, N.<sup>1</sup>; Fonseca, T. F.<sup>1</sup>; Tomaz, M. A.<sup>1</sup>; Calil-Elias, S.<sup>2</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup>; Cunha, V. M. N.<sup>1</sup>; Noel, F.<sup>1</sup>; Quintas, L. E. M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UFF - Farmácia

**Introduction:** Snakebites are an important public health problem in Latin America, and the major causative agents are snakes from *Bothrops* genus. Myonecrosis constitutes one of the main venom-evoked injuries. Experimentally, complete degeneration of murine extensor digitorum longus (EDL) myocytes occurs up to 3 days after crude venom injection and recovery is observed following the 7<sup>th</sup> day. Heparin antagonizes venom myotoxicity. Because Ca<sup>2+</sup> is essential for muscle physiology and it is barely known what happens to agents responsible for Ca<sup>2+</sup> homeostasis during necrosis/regeneration, here we evaluated the activity/expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>- and Ca<sup>2+</sup>-pumps in this condition and the effect of heparin. **Methods:** Adult Swiss mice separated in 3 groups were administered with crude venom (1 µg/g) or saline just over EDL in the right limb. One group was treated i.v. with heparin (10 µg/g) 15 and 240 min after venom administration. Then, EDL were excised following 1, 3, 7 and 21 days, homogenized and the pellets recovered from ultracentrifugation were used for Western blot of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>- and Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA) isoforms and to measure Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity. In addition, rat kidney (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase α1 isoform) and brain (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase α1, α2 and α3 isoforms) and EDL (SERCA1 and 2) were used to evaluate the effect of venom (0.1, 1, 10 and/or 20 µg/ml) and heparin (100, 300 and/or 500 µg/ml) on enzyme activity *in vitro*. **Results and Discussion:** At the protein level, there was a significant 2-3-fold increase of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase α1 and α2 isoforms and a reduction by 50% of the major isoform SERCA1 expression after 1 and 3 days of venom injection. At the 7<sup>th</sup> day, the expression pattern returned to basal values, which indicates a putative recovery of the degenerated muscle. On the other hand, an early 3-fold increase of SERCA2 (a minor isoform in EDL) occurred, but was not followed by a return to control levels. Preliminary Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity data of murine EDL showed a similar trend. When venom was tested *in vitro* with well-established enzyme preparations, it affected Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity in a concentration-dependent fashion (20% of control at 10 µg/ml), but had no influence on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity. As a whole, heparin treatment did not change the effect of venom on protein expression or enzyme activity. In conclusion, our results demonstrate that muscle necrosis/regeneration phenomenon induced by *B. jararacussu* venom differently affect cation pumps, suggesting that these alterations could modify skeletal muscle Ca<sup>2+</sup> homeostasis in this condition. Apoio Financeiro: PIBIC-UFRJ, FAPERJ, CAPES, CNPq

**09.088**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**



**09.089**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.090

Efeito miotóxico do veneno de *Agkistrodon contortrix laticinctus* na preparação frênico-diafragma de camundongo: inibição pela suramina. Serafim, A. D.<sup>1</sup>; Strauch, M. A.<sup>1</sup>; Tomaz, M. A.<sup>1</sup>; El-Kik, C. Z.<sup>1</sup>; Calil-Elias, S.<sup>2</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UFF - Farmácia

**Introdução:** Estudamos o efeito de veneno da serpente *Agkistrodon contortrix laticinctus* (ACL) *in vivo* e na preparação frênico-diafragma de camundongos, e a habilidade da suramina em antagonizá-lo. **Material e Métodos:** Camundongos receberam dentro da cavidade peritoneal na cúpula diafragmática *in vivo* solução de veneno de ACL em diferentes doses. Após 01, 07 e 60 dias estes músculos estudados *in vitro* na preparação frênico-diafragma. *In vitro* ele foi adicionado a solução nutritora apropriada contendo a preparação frênico-diafragma de camundongo sozinho ou associado à suramina. *In vivo* o veneno induziu dificuldade de deambulação e morte. Naqueles que receberam a suramina associada ao veneno, observou-se proteção da letalidade. A preparação frênico-diafragma foi estimulada direta (músculo) ou indiretamente (nervo frênico) e o veneno de ACL adicionado à solução nutritora (10-50 mcg/mL) inibiu a atividade contrátil de forma dependente da concentração do veneno e do tempo de exposição. Observou-se aumento da tensão basal e contratatura com redução da amplitude dos abalos na ordem de 90-100% após 30-120 min. de exposição ao veneno nas concentrações de 12,5; 25 e 50 mg/mL. Nestes estudos na preparação frênico-diafragma, através através de estimulação direta e indireta, evidenciaram que a suramina (10-50 mM), de forma dependente de concentração, protegeu da ação do veneno bruto da ACL na amplitude dos abalos musculares e aumento da tensão basal e contratatura. A adição da suramina (25 mM e 50 mM) ao veneno (25 mcg/mL) preservou a amplitude dos abalos na faixa de 50-100%. No protocolo *in vivo* após a aplicação tópica do veneno de ACL (1, 3 e 10 mg/kg) na cúpula do músculo diafragma, observamos inibição da amplitude do abalo de forma dependente da dose na ordem de: 51% ( $\pm$  13,17); 25% ( $\pm$  4,16) e 3% ( $\pm$  1,3), respectivamente, um dia após aplicação do veneno; 20% ( $\pm$  3), 21% ( $\pm$  1,5) e 11% ( $\pm$  1,7), respectivamente, 7 dias após aplicação do veneno; 41% ( $\pm$  8,57); 24% ( $\pm$  2) e 9% ( $\pm$  5), respectivamente, 60 dias após aplicação do veneno. A administração de suramina (5 mg/kg), em protocolos de pré-incubação e pré- tratamento protegeu da lesão muscular os animais cujas cúpulas diafragmáticas foram expostas ao veneno de ACL. A miotoxicidade *in vivo* após a exposição tanto do veneno de ACL como a proteção pela suramina foi confirmada pela análise morfológica nos intervalos de tempo de 01, 07 e 60 dias, em diafragma de camundongos. **Conclusão:** Nossos estudos indicam que o veneno de ACL inibe os abalos e produz lesão na preparação nervo frênico-diafragma de camundongos. Além disso, mostram que a suramina protege as células musculares da lesão do veneno bruto de ACL, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

## 09.091

Effects of myotoxin-II from *Bothrops moojeni* on mouse neuromuscular preparations and its neutralization by aqueous extract of *Casearia sylvestris*. Cavalcante, W. L. G.<sup>1</sup>; Campos, T. O.<sup>1</sup>; Dal Pai-Silva, M.<sup>2</sup>; Pereira, P. S.<sup>3</sup>; Oliveira, C.<sup>4</sup>; Soares, A. M.<sup>5</sup>; Gallacci, M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>IB-UNESP - Farmacologia; <sup>2</sup>IB-UNESP - Morfologia; <sup>3</sup>UNAERP - Biotecnologia; <sup>4</sup>USP - Farmácia; <sup>5</sup>USP - Análises Clínicas Toxicológicas e Bromatológicas

**Background:** Myotoxin-II (MjTX-II), isolated from *Bothrops moojeni* venom, is a phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) homologue devoid of enzymatic activity. This toxin induces characteristic myonecrosis in vivo and neuromuscular blockade in vitro. In this work we characterized both the myotoxic and paralyzing effects of the MjTX-II on mouse neuromuscular preparation by means of morphological, myographic and electrophysiological techniques. Additionally we evaluated the influence of *Casearia sylvestris* (Cs) aqueous extract upon MjTX-II effects. **Material and Methods:** Myotoxicity was assessed by light and electronic microscopic analysis of the diaphragm muscles and the myonecrosis index was evaluated by the relative % of damaged fibers. Paralyzing activity was evaluated through the recording of isolated contractions (0.5 Hz) evoked directly or indirectly in phrenic-diaphragm preparations. Conventional microelectrodes techniques were used to record the membrane resting potential (RP). MjTX-II (1.0 mM) was pre-incubated with Cs (1:5 w/w) for 30 min at 37°C. Data (mean ± S.E.M.; n=3-8) were analyzed by ANOVA (p<0.05). **Results:** MjTX-II (1.0 mM) induced significant index of myonecrosis that was characterized by edema, round fibers, and cell areas devoid of myofibrils. This toxin also promoted irreversible and time-dependent blockade of directly and indirectly evoked twitches that was simultaneous to the depolarization of the cell membrane at both endplate and extra-endplate regions. Pre-incubation with Cs significantly neutralized both the muscle damage (protection of 80% to 94%) and the neuromuscular blockade of preparations exposed to MjTX-II (protection ranged from 93% to 97%). **Conclusions:** These findings indicated that the blockade of the neuromuscular transmission is a consequence of the membrane depolarization caused by the myotoxic activity of the toxin. Additionally, the present results expanded the spectrum of Cs antivenom activities, evidencing that it could be a good source of potentially useful PLA<sub>2</sub> inhibitors. Apoio Financeiro: FAPESP; FUNDUNESP

## 09.092

Kinetics of *Bothrops alternatus* venom in rats. Mello, S. M.<sup>1</sup>; Linardi, A.<sup>2</sup>; Marcelino-Pereira, E.<sup>2</sup>; Hyslop, S.<sup>2</sup> <sup>1</sup>UNICAMP - Controle de Intoxicações; <sup>2</sup>UNICAMP – Farmacologia

**Introduction:** An understanding of venom kinetics and the factors that influence it may be useful in improving antivenom therapy in the treatment of snakebites. In this work, we examined the kinetics of *Bothrops alternatus* venom in blood, renal tissue and urine of rats. **Methods:** Male Wistar rats (250-300 g) were injected with *B. alternatus* venom (800 mg/kg, i.v.). Blood and urine samples were collected before and 0.5, 1, 3 and 6 h and 1, 2, 3, 7 and 15 days post-venom, after which the rats were immediately killed with halothane and renal tissue was collected for venom quantification. Urine volume was measured and the urine was assayed for urobilinogen, glucose, bilirubin, ketones, urine density, occult blood, pH, protein, nitrite and leucocytes. Venom was quantified in serum, renal tissue and urine using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), essentially as described by Chávez-Olórtegui *et al.* (*Toxicon* **31**, 417-425, 1993). Tissue samples were homogenized in ice-cold PBS containing 5 mM EDTA, centrifuged and the supernatant used for venom quantification (Domingos MO *et al.*, *Braz. J. Biol. Med. Res.* **27**, 2613-2622). **Results:** *Bothrops alternatus* venom showed bi-compartmental kinetics with a rapid initial decrease (a phase) that corresponded to venom distribution, followed by a slow linear decrease (b phase) that corresponded to venom elimination; no circulating venom was detected after 7 days post-venom. Venom was detected in renal tissue 30 min after administration (1661±281 mg/g renal tissue; means±S.E.M.; n=6), but decreased progressively thereafter, with a kinetic profile similar to that in serum, although the concentrations were lower. There was no urine formation at < 3 h post-venom. Venom was detected in urine only 3, 6 and 24 h after venom administration (2527±1604, 495±395 and 13.2±3.1 ng/3 h, respectively; n=6; p<0.05 compared to time 0). Oliguria was observed ≥72 h post-venom, and urine acidification was seen 3 h and 6 h post-venom; proteinuria was observed at all intervals. Urobilinogen, bilirubin, nitrite and urine density were unaltered compared with control rats. Glucose (100 mg/dl) was detected in three out of six (3/6) rats after 3 h. Ketones were detected 3 h (4/6), 6 h (2/5), 3 days (4/6) and 15 days (3/5) post-venom. Leucocytes were seen 3 h (6/6), 6 h (3/5) and 24 h (1/6) post-venom, and occult blood was present after 3 h (6/6) and 6 h (4/5). **Discussion:** *Bothrops alternatus* venom showed rapid clearance from the circulation. Venom was detected in renal tissue and urine, in agreement with a renal route of elimination. The presence of venom in renal tissue could contribute to renal damage caused by this venom. Apoio Financeiro: CNPq

### 09.093

Parâmetros farmacocinéticos da fração cromatográfica PROTEOLÍTICA P1G10 DO látex de *Carica candamarcensis*. Lemos, F. O.<sup>1</sup>; Salas, C. E.<sup>2</sup>; Cardoso, V. N.<sup>1</sup>; Lopes, M. T. P.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia

**Introdução.** Nosso grupo vem caracterizando bioquímica e farmacologicamente as cisteíno-proteínas do látex de *Carica candamarcensis*. L. (*voucher* na Universidade de La Serena, Chile, # 15063). Até o momento, estudos com a fração P1G10 (obtida por Sephadex G10), demonstraram atividades cicatrizante gástrica e tópica (Mello *et al. Rec Prog Med Plants* 11(12): 211, 2006), antiinflamatória (Christiano, S.C. *et al. 39º Cong Bras Farm e Ter Exp*, 2007, Ribeirão Preto, SP) e antitumoral/antimetastática (Figueiredo, C. *et al. 39º Cong Bras Farm e Ter Exp*, 2007, Ribeirão Preto, SP). Essas atividades, aliadas a uma baixa toxicidade tópica e sistêmica (Villalba, M.I *et al. , 39º Cong Bras Farm e Ter Exp*, 2007, Ribeirão Preto, SP) colocam P1G10 como um promissor fitoterápico e nos leva a prosseguir com os ensaios pré-clínicos, dentre eles a determinação das propriedades farmacocinéticas. **Métodos e Resultados.** P1G10 foi marcada com o isótopo radioativo <sup>99m</sup>Tc (Nunan *et al. Life Sciences* 73:319, 2003), obtendo-se um rendimento de marcação da ordem de 95%. Através de SDS/PAGE e cromatografia de afinidade foi possível verificar que as proteínas marcadas mantiveram a integridade e capacidade antigênica, respectivamente. Camundongos Swiss machos (25-30g, n=48) receberam P1G10-<sup>99m</sup>Tc, na dose de 1 mg/kg, por e.v., s.c. ou v.o. Após diferentes intervalos (0,25-24 h), os animais foram sacrificados para coleta de órgãos e fluidos para determinação da taxa de captação de radioatividade, da curva concentração x tempo e da área sob a curva (AUC). As maiores relações AUC<sub>órgão</sub>/AUC<sub>sangue</sub> foram observadas na bexiga (113,7), rins (46,1), intestino grosso (5,5), fígado (4,2) e intestino delgado (1,2), enquanto que na pele (0,72), coração (0,68), tireóide (0,48), tecido adiposo (0,30) e cérebro (0,06) foram obtidos os menores valores. Órgãos como pulmão, baço e estômago apresentaram taxas de captação equivalentes ao do sangue. O T<sub>1/2</sub> determinado foi de 1,51h, a biodisponibilidade por via s.c. de 106,9% e de 8,4% por v.o. **Discussão.** A marcação de P1G10 com <sup>99m</sup>Tc não alterou características bioquímicas das proteínas e a verificação de baixas taxas de captação de radioatividade na tireóide demonstrou a ausência de TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>. As maiores taxas de captação foram observadas nos órgãos relacionados a metabolização e excreção de fármacos (rins, bexiga e fígado). Devido à propriedade hidrofílica da P1G10, as menores taxas foram obtidas no tecido adiposo e cérebro. A hidrofília, aliada à alta massa molecular, refletiu no pequeno percentual de biodisponibilidade por v.o. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

**09.094**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.095

Estudo da atividade antiofídica do extrato etanólico e da planta *Humirianthera ampla*. Strauch, M. A.<sup>1</sup>; Soares, M. A.<sup>2</sup>; Fernandes, F. F. A.<sup>1</sup>; El-Kik, C. Z.<sup>1</sup>; Cons, B. L.<sup>1</sup>; Tomaz, M. A.<sup>1</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup> UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UNIR - Química Orgânica

**Introdução:** Apesar da soroterapia ter sido descoberta há mais de 100 anos muitas comunidades rurais brasileiras não tem acesso aos antivenenos, fazendo uso de plantas empiricamente conhecidas com atividade antiofídica na cultura popular, como a planta amazônica denominada *Humirianthera ampla* (HA) que foi por nós investigada em diferentes protocolos experimentais usando venenos de serpentes do gênero *Bothrops*. **Métodos:** Testamos os efeitos do extrato de HA nas atividades fosfolipásica, proteolítica, pró-coagulante, hemorrágica e edematogênica, dos venenos de *B. jararacussu*, *B. atrox*, *B. jararaca*. A atividade miotóxica *in vivo* e *in vitro* foi avaliada apenas com o veneno de *B. jararacussu*. Avaliamos *in vitro* a atividade miotóxica usando músculos *Extensor digitorum longus* de camundongos medindo a taxa de liberação de creatinoquinase(CK) e *in vivo*, o aumento da atividade de creatino kinase no plasma 2 h após injeção i.m. do veneno, como descrito por Melo e Suarez-Kurtz (1988). A atividade hemorrágica foi avaliada pela injeção intradérmica em camundongos do veneno de *B. jararaca* e *B. atrox* isolado ou pré-incubado com o extrato de HA (Melo *et al.*,1994). A atividade antiproteolítica foi testada usando azocaseína como substrato de acordo com Garcia *et al.*, (1988) dos venenos de *Bothrops* nas concentrações de 10 mg/mL. A atividade fosfolipásica foi determinada através da adaptado do método turbidimétrico de Marinetti (1965) utilizando como substrato suspensão de gema de ovo de galinha, A atividade hemorrágica foi avaliada em camundongos pelo método de Kondo (1960) modificado por Melo e colaboradores (1994). O tempo de coagulação sangüínea foi avaliado pelo método de Lee-white modificado (Raphael, 1983). **Resultados:** O extrato de HA (300 mg/mL) inibiu em 83,40 %, 87,48 % e 65,04 % a atividade proteolítica dos venenos *B. atrox*, *B. jararacussu*, *B. Jararaca* respectivamente, e 92,20%, 48,5% e 41,7% % da atividade fosfolipásica dos veneno de *B. jararaca*, *B. atrox* e *B. jararacussu* respectivamente, na concentração de 500 mg/mL. No estudo da atividade hemorrágica *in vivo* do veneno de *B. jararaca* e *B. atrox* observou-se inibição completa pelo extrato na dose de 300 mg/kg. O extrato apresentou atividade antimiotóxica *in vivo* e *in vitro* contra o veneno de *B. jararacussu*, como também protegeu das atividades edematogênicas e pró-coagulantes dos venenos de *B. jararacussu*, *B. atrox*, *B. jararaca*. **Conclusão:** Nossos estudos indicam que o extrato de HA apresenta relevante atividade antiofídica, demonstrando que algumas informações da cultura popular sobre plantas devem ser investigadas.

## 09.096

Effects of coffee on rat in the Elevated Plus-Maze Test. Lucena, G. M. R.<sup>1</sup>; Diniz, J. S. V.<sup>1</sup>; Pinheiro, W. B.<sup>1</sup>; Ferreira, F.<sup>1</sup>; Souza, V. Y. V.<sup>2</sup>; Ferreira, V. M. M.<sup>1</sup>; Campos, E. G.<sup>2</sup> <sup>1</sup>UnB-Ciências da Saúde; <sup>2</sup>UnB- Biologia Celular

**Introduction:** Coffee is among the most widely consumed beverages in the world. Researchers have shown that moderate consumption, corresponding to 3 to 4 cups/day of average strength coffee, is good for human health. Coffee drinking has been linked to protective effects on various systems like skeletal (bone), reproductive, nervous, and cardiovascular systems, and also on homocysteine and cholesterol levels. Only a few significant bioactivities of coffee have been documented. Among them, coffee phenolic compounds are reported to have antioxidant, anticarcinogenic, and antimutagenic effects. Others compounds include caffeine, a central nervous system (CNS) stimulant. In the present study, we investigated the effects of coffee oral administration to rats using behavioral parameters including locomotion, anxiety and depression after acute exposure. **Methods:** Two months old female Wistar rats were used in this study. Coffee (1, 10 or 40 mg/kg; *Coffea Arabica*; commercial trade name *Prima Qualidade*) or filtered water (control group; 10 mL/kg) were administered by oral route (p.o.). We used the filter drip method to brew the coffee. Dose effects on spontaneous locomotor activity, anxiolytic and antidepressant properties were studied in the open-field, elevated plus-maze test (EPM) and in the forced swimming tests (FST), respectively. A group received diazepam (1 mg/kg) as a positive control for anxiolytic action. **Results:** The results revealed that coffee doses of 10 and 40 mg/kg increased the locomotion behavior in the open-field test. In the EPM test, coffee doses of 10 (14.57±2.40,  $p < 0.05$ , ANOVA, Tukey) and 40 mg/kg (15.27±2.33,  $p < 0.01$ ) increased the percentage time in the open arm entries when compared to control (6.61±1.17). These results were similar with that obtained with diazepam (1 mg/kg). In the FST, coffee administration caused no changes in animal behavior. **Discussion:** Our results demonstrated that crude coffee causes a dose-dependent anxiolytic-like response in female rats upon acute treatment in the EPM test. Therefore, the results confirm literature data that coffee has psychotropic and psycho-stimulant properties. Based on our results we concluded that the EMP test may be useful to compare different coffees in terms of CNS effects. **Financial support:** FAPDF. **Acknowledgements:** We thank CAPES for a Ph.D. fellowship. Apoio Financeiro: FAPDF



## 09.097

Estudo de produtos naturais com atividade antimicobacteriana. Vergara, F. M. F.<sup>1</sup>; Candea, A. L. P.<sup>1</sup>; Nakamura M. J.<sup>2</sup>; Teixeira D. F.<sup>2</sup>; Henriques, M. G.<sup>1</sup> <sup>1</sup>FIOCRUZ - Farmacologia Aplicada; <sup>2</sup>FIOCRUZ - Produtos Naturais

**Introdução:** A tuberculose é responsável por cerca de três milhões de mortes a cada ano e estima-se que um terço da população mundial esteja infectada com o bacilo. Estudos em produtos naturais têm contribuído para a identificação e o desenvolvimento de novas drogas antimicobacterianas. Algumas plantas são popularmente utilizadas pelo homem no tratamento da tuberculose, tais como: *Zingiber officinalis*, *Jatropha gossypifolia*, *Bidens pilosa*, *Caesalpinia ferrea* e *Copaifera* sp. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito destas espécies vegetais, identificadas botanicamente, quanto à atividade antimicrobiana e imunoreguladora *in vitro*. **Métodos:** A seleção das espécies a serem trabalhadas foi feita através do buscador *sciencefinder*, foi feito o preparo da exsicata e o depósito do *voucher*. Os extratos hidroalcoólicos foram preparados pela metodologia de *Soxhlet*. A identificação química foi feita utilizando cromatografia gasosa (CG), ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Foi realizado o ensaio de citotoxicidade, pelo método de redução do MTT em linhagem de macrófagos murinos J774 não infectados e infectados pela micobactéria. Foram avaliadas as concentrações de 0,5; 5; 50, 200 e 500 µg/mL. Utilizou-se o método ELISA para dosagem de citocinas e o método de Greiss para quantificação de nitrito. Células J774 infectadas e tratadas com as amostras foram lisadas e seu conteúdo semeado em meio Lowenstein-Jensen (LJ), para avaliação de crescimento de unidades formadoras de colônia (UFC). **Resultados e Discussão:** A coleta foi realizada na Plataforma Agro-Ecológica de Farmanguinhos da FIOCRUZ-RJ e no Campus de Manguinhos da FIOCRUZ-RJ. As espécies foram identificadas no Jardim Botânico-RJ. Foi feita a identificação química e obtenção do *fingerprint* das amostras estudadas. Observou-se que na concentração de 200 µg/mL, apenas o extrato do *Bidens pilosa* foi citotóxico. A infecção dos macrófagos com *M. bovis* induziu um discreto aumento na produção de óxido nítrico que foi potencializado quando as células foram tratadas (200 µg/mL) com os extratos de *Jatropha gossypifolia*, *Bidens pilosa* e *Caesalpinia ferrea*. Por outro lado, a produção de TNF- $\alpha$  por macrófagos infectados foi significativamente aumentada quando comparada a produção por células não infectadas e este aumento foi significativamente reduzido em células pré-encubadas com o extrato de *Zingiber officinalis*, *Jatropha gossypifolia*, *Bidens pilosa*, *Caesalpinia ferrea* e *Copaifera* sp. Assim, nossos resultados sugerem um efeito imuno-modulador destas espécies vegetais que podem ser relevantes para o efeito terapêutico relatado popularmente. Apoio Financeiro: CNPq e PDTIS

**09.098**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

## 09.099

Avaliação do tipo de fibra do músculo esquelético de camundongo após lesão por veneno de *Bothrops Jararacussu* e tratamento com heparina. Borges, P. A.<sup>1</sup> Borges, P. A.<sup>1</sup>; Martins, V. V.<sup>1</sup>; Fonseca, T. F.<sup>1</sup>; Gaban, G. A.<sup>1</sup>; Calil-Elias, S.<sup>2</sup>; Melo, P. A.<sup>1</sup> UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; <sup>2</sup>UFF - Farmácia

**Introdução:** O veneno de *B. jararacussu* é potencialmente miotóxico, e a regeneração do músculo não é completa após a lesão pelo veneno. A heparina melhora a regeneração após a lesão por veneno de *B. jararacussu*, no aspecto morfológico, bioquímico e resposta contrátil (Melo, *et al.*, 1993). Característica importante para avaliação da regeneração muscular é a observação do tipo de fibra, o qual é fundamental para a função fisiológica. Este trabalho visa estudar o tipo de fibra do músculo *Extensor digitorum longus* (EDL) de camundongo regenerado após lesão pelo veneno de *B. jararacussu* e tratamento com heparina. **Métodos:** Foi realizada a injeção perimuscular do veneno de *B. jararacussu* (1,0 µg/g) da pata direita de camundongos albinos suíços (Calil-Elias, *et al.*, 2002). O grupo controle recebeu injeção de solução fisiológica salina. O Terceiro grupo 15 e 240 min. após a injeção do veneno recebeu tratamento com Heparina (IV - 10 µg/g). Após 21 dias os animais foram sacrificados sob anestesia com éter etílico, o músculo foi dissecado, congelado previamente em isopentato e posteriormente em nitrogênio líquido, onde foi armazenado. Os músculos foram cortados em criostato a -25° C com espessura de 12 µm. Os tipos de fibra foram caracterizados pela técnica de miosina ATPase. Esta técnica consiste inicialmente na pré-incubação em soluções de pH 4, 35, 4,55 ou 10,35. A incubação é feita em solução de ATP e Ca<sup>2+</sup>, em pH 9,4 onde a enzima ATPase libera o fosfato do ATP o qual combina com o Ca<sup>2+</sup>, este é insolúvel neste pH se depositando no sítio da atividade enzimática, posteriormente os cortes são incubados em solução de cloreto de cobalto onde o cobalto é trocado pelo Ca<sup>2+</sup> formando fosfato de cobalto o qual se complexará com o sulfeto de amônio, gerando a coloração. O material foi fotografado e as fibras foram quantificadas através de programa computacional Image Java. **Resultados e Discussão:** No grupo controle 5% das fibras são do tipo I e 95% do tipo II, o que era esperado, pois o músculo EDL possui principalmente fibras do tipo II. O músculo regenerado do grupo que recebeu apenas a injeção de veneno foi encontrado 2,5% de fibras do tipo I, enquanto que o tratamento com Heparina induziu um aumento na expressão deste tipo de fibra (9%). Estudos mais aprofundados devem ser feitos para a caracterização dos subtipos de fibra. **Bibliografia:** CALIL-ELIAS, S., *et al.*, Effect of heparin and antivenom on skeletal muscle damage produced by *Bothrops jararacussu* venom. *Histol. & histopathol.*, 17(2), 463-70, 2002. MELO, P.A., *et al.*, Antagonism of the myotoxic effects of *Bothrops jararacussu* venom and bothropstoxin by polyanions. *Toxicon*, 31, 285-291, 1993. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, PRONEX e FUJB-UFRJ

## 09.100

Efeito do extrato hidroalcoólico de *Solidago chilensis* na atividade locomotora de camundongos em caixa de atividade e *rota rod*. Paula-Freire, L. I. G.<sup>1</sup>; Molska, G. R.<sup>2</sup>; Wuo-Silva, R.<sup>3</sup>; Malpezzi-Marinho, E. L. A.<sup>2</sup>; Frussa-Filho, R.<sup>4</sup>; Marinho, E. A. V.<sup>5</sup> <sup>1</sup>UNIFESP - Psicobiologia; <sup>2</sup>UBC - Ciências da Saúde; <sup>3</sup>UBC- Fisiologia; <sup>4</sup>UNIFESP - Farmacologia; <sup>5</sup>UBC/UNIFESP - Farmacologia

**Introdução:** *Solidago chilensis*, arnica, é rica em metabólitos secundários, como flavonóides (quercetina e rutina). É usada popularmente pelas propriedades antiinflamatórias, antinociceptivas, etc. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do extrato hidroalcoólico de *S. chilensis* (EHSc) na locomoção de camundongos em caixa de atividade (CA) e no *rota rod* (RR). **Métodos:** Caules, folhas e flores coletados em Guararema, SP, foram mantidos em álcool 93% (100 g/L) por 1 mês; o extrato foi filtrado, concentrado, liofilizado e estocado em geladeira até o uso. Camundongos Swiss machos (30-35 g) do biotério da UNIFESP, foram usados no teste na CA em grupos (n=12) que receberam salina ou EHSc (3, 10 e 30 mg/kg). Um dia antes do teste, os animais receberam salina ip e 5 min depois habituados por 1h na CA. No dia do teste, receberam salina ou EHSc 3, 10 e 30 mg/kg e foram colocados individualmente na CA, por 1h, onde ambulação total (nº de vezes que cruza o feixe de luz) e frequência de levantar foram computados a cada 5 min. No RR os animais pré-selecionados 1 dia antes do teste, divididos em grupos (n=8), receberam por via ip salina, EHSc (3, 10 ou 30 mg/kg) ou diazepam (2 mg/kg) sendo computado o tempo de permanência no aparelho a 12 rpm, nos tempos T0', T30', T60' e T90'. Os dados foram analisados estatisticamente. **Resultados:** Os animais tratados com EHSc 3 mg/kg não tiveram redução da atividade locomotora (588±63) comparados ao salina (517±66) (p>0,05), mas os tratados com 10 (332±26) e 30 mg/kg (246±16) mostraram redução significativa (p<0,05). Em relação à frequência de levantar, o grupo que recebeu 3 mg/kg não apresentou redução significativa (66±7) comparado ao salina (68±10) (p>0,05), enquanto que os tratados com 10 (32±2) e 30 mg/kg (16±1) tiveram redução significativa (p<0,05). No teste do RR verificou-se que no T0' não houve diferença entre os grupos. No T30' o teste de Kruskal-Wallis indicou diferença entre os grupos (p<0,01) e pelo teste a posteriori de Dunn's o grupo diazepam (38,2±5,4) apresentou redução significativa na permanência no aparelho comparado ao salina (59,4±0,6) e os tratados com EHSc não foram diferentes do salina (p>0,05). Destaca-se que os animais que receberam 30 mg/kg tiveram o tempo de permanência semelhante ao grupo diazepam, mas não diferente do salina. Nos tempos T60' e T90' não houve diferença entre os grupos. **Discussão:** O efeito depressor do EHSc é importante, pois a planta é muito usada pela população e resultados da ação antinociceptiva (do nosso grupo) são analisados com cuidado, já que o animal poderia não responder ao estímulo nociceptivo pela depressão do sistema motor. Porém, no teste de RR verificou-se que 3 e 10 mg/kg, não comprometeram a função motora dos animais e com 30 mg/kg foi verificada uma redução maior, porém, também não significativa. **Conclusão:** Os resultados sugerem que o EHSc apresenta efeito depressor do sistema nervoso, porém sem comprometer a função motora dos animais, principalmente nas doses de 3 e 10 mg/kg.

## 09.101

*Cipura paludosa* prevents brain damage by ethanol and methylmercury during development of the central nervous system. Lucena, G. M. R.<sup>1</sup>; Maia, C. S. F.<sup>1</sup>; Porto, F.A.<sup>1</sup>; Diniz, J. S. V.<sup>1</sup>; Pinheiro, W. B.<sup>1</sup>; Azevedo, M. S.<sup>2</sup>; Santos, S. N.<sup>1</sup>; Campos, E. G.<sup>3</sup>; Ferreira, V. M. M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UnB-Ciências da Saúde; <sup>2</sup>UNIR - Química; <sup>3</sup>UnB- Biologia Celular

**Introduction:** Fetal exposure to alcohol and mercury occurs at a high frequency in some regions of Brazil, and is becoming a serious Public Health problem. It is mainly related to pregnant women who are alcoholic and who live in mining areas. Previous studies showed protective effects of *Cipura paludosa* ethanolic extract (EE) against methylmercury (MeHg)-induced neurotoxicity in adult mice. In this study we evaluated anxiolytic and antidepressant-like effects of EE, using the elevated plus-maze (EPM) and forced swimming (FST) tests, in 60 days old rats exposed *in utero* and during the lactational period to MeHg and/or ethanol (EtOH).

**Methods:** Pregnant female Wistar rats were divided into two groups: one received tap water and the other EtOH 22.5% (w/v) for 21 days and another 21 days during breast-feeding. On the 15<sup>th</sup> day of pregnancy, each group was subdivided into two more groups which received tap water or 8 mg/kg MeHg (p.o.), totaling four groups: (1) Control (C), (2) EtOH, (3) MeHg and (4) EtOH+MeHg. All behavioral experiments were made using 2 months old adult offspring (n=10 animals per treatment). Each group was treated with 3 doses of *C. paludosa* EE (1, 10 or 100 mg/kg, p.o.) or saline (S) for 14 days. **Results:** Results showed that in the group treated with MeHg the frequency in the open arm entries (%OAE) in the EPM test decreased when compared to the control group ( $21.17 \pm 1.56$  versus  $9.59 \pm 3.31$ ;  $p < 0.05$ ; ANOVA, Tukey) suggesting an anxiogenic behavioral response. In the animal groups treated with *C. paludosa* EE 1 mg/kg ( $31.91 \pm 1.73$ ), 10 mg/kg ( $31.94 \pm 2.26$ ) and 100 mg/kg ( $33.57 \pm 1.12$ ), the %OAE increased, when compared to the control group ( $20.31 \pm 1.85$ ). There was an increase in the open arm time (%OAT) in the groups treated with EE alone, MeHg plus 10 mg/kg EE or MeHg plus 100 mg/kg EE compared to their respective controls, suggesting an anxiolytic behavioral response. In the FST, treatment with EE (all doses), EtOH+MeHg plus EE (all doses) or MeHg plus EE (10 mg/kg) caused a reduction in immobility and an increase in swimming and climbing behaviors, when compared to their respective controls. **Discussion:** Our results demonstrated that prenatal and lactational exposure to EtOH and/or MeHg caused behavioral changes and neurocognitive deficits. They also indicated that components in the *C. paludosa* EE have anxiolytic and antidepressant-like properties which deserve further investigation. **Acknowledgements:** We thank CAPES for a Ph.D. fellowship.

## 09.102

Anxiolytic and antidepressant-like effects of *Cipura paludosa* in rats. Lucena, G. M. R.<sup>1</sup>; Porto, F. A.<sup>1</sup>; Azevedo, M. S.<sup>2</sup>; Campos, E. G.<sup>3</sup>; Ferreira, V. M. M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UnB - Ciências da Saúde; <sup>2</sup>UNIR-Química; <sup>3</sup>UnB- Biologia Celular

**Introduction:** Anxiety and depression are serious brain disorders in today's society and highly prevalent in Latin American countries, including Brazil. More than 20% of the human adult population suffers from these conditions at sometime during their life. Drugs of natural origin that possess beneficial effects on the central nervous system are emerging as promising alternative therapies to treat these affective disorders. *Cipura paludosa*, a native plant distributed in the North Brazil, is used in traditional medicine as an anti-inflammatory and analgesic agent, against diarrhea and for regulation of the menstrual flow. The goal of this pilot study was to evaluate whether the oral administration of an ethanolic extract (EE) from *C. paludosa* has any effect on locomotion, anxiety and depression in rats after acute, subchronic (7 days) and chronic (14 days) treatments. **Methods:** Male Wistar rats (n=10 per group) were acutely, sub-chronically or chronically treated with 1, 10 or 100 mg/kg EE by oral route (p.o.). The control group was treated with saline and two other groups received diazepam (1 mg/kg) as a positive control for anxiolytic action or fluoxetine (10 mg/kg) as a positive control for antidepressant action. Spontaneous locomotor activity, anxiolytic and antidepressant properties were investigated by applying the open-field, elevated plus-maze (EPM) and forced swimming (FST) tests, respectively. **Results:** The results revealed that all tested doses of EE showed no effects on the locomotion behavior evaluated by the open-field test. In the EPM test, chronic treatment with increasing doses of EE (1, 10 or 100 mg/kg) increased the percentage of frequency (32.17±2.24, 32.31±2.52, 43.40±2.25 versus 22.17±1.39) and time (10.75±1.04, 9.65±0.81, 15.20±1.96 versus 4.68±0.37) in the open arm entries, compared to the control groups, respectively. In the FST, all three doses of EE (1, 10 or 100 mg/kg) reduced the time of immobility upon the subchronic (81.9±6.35, 75.9±7, 77.5±8.83 versus 107±3.05) or chronic (87.6±3.7, 91.6±1.7, 85±2.94 versus 108.8±2.67) treatments. Animals treated with 10 and 100 mg/kg EE increased the climbing activity (subchronic treatment) and the swimming activity (chronic treatment). **Discussion:** The results provide evidence, for the first time, that EE from *C. paludosa* bulbs exerts significant *in vivo* anxiolytic and antidepressant-like properties. The results demonstrate the high potency of this plant on the CNS, and open new possibilities for further investigation. **Acknowledgements:** We thank CAPES for a Ph.D. fellowship.

**09.103**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

#### 09.104

Investigação preliminar de um extrato de café (*Coffea arabica*) sobre o sistema dopaminérgico. Molska, G. R.<sup>1</sup>; Paula-Freire, L. I. G.<sup>1</sup>; Sakalem, M. E.<sup>1</sup>; Mendes, F. R.<sup>1</sup>; Carlini, E. L. A.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>UNIFESP - Psicobiologia; <sup>2</sup>CEBRID – Psicobiologia

**Introdução:** Estudos epidemiológicos indicam uma correlação inversa entre o consumo de café e a doença de Parkinson (Trugo & Macrae, 1984). Mendes *et al.* 2004/2005 observaram uma potencialização da estereotipia induzida pela apomorfina com administração de um extrato preparado a partir de sementes não torradas de café. **Métodos:** Para o teste de catatonía camundongos Swiss (40-50 g, n=15) receberam por via oral um extrato de café (*Coffea arabica*) rico em cafeína (EC) nas doses de 100 e 400 mg/kg, e após 30 min haloperidol (5 mg/kg, ip). Após 45 min foi registrado por um período de 10 min o tempo de imobilidade (posição catatônica) e número de vezes que o animal descia da barra no intervalo de 10 min (máx 10X). Para o teste de rotação ratos Wistar machos (280 g-320 g, n= 10-15) foram submetidos a cirurgia estereotáxica utilizando coordenadas específicas. O grupo lesão foi injetado com a neurotoxina 6-OHDA (12 µg/2,5 µl diluída em salina tamponada e com ácido ascórbico 0,2%) no feixe prosencefálico medial através de uma agulha injetora e bomba de infusão (0,40 µl/min), enquanto o grupo SHAM recebeu salina. Os animais lesionados foram desafiados no 14º dia com água ou EC nas doses de 100 e 400 mg/kg (oral), ou somente EC 400 mg/kg (grupo SHAM). No 15º dia os animais foram desafiados com apomorfina (0,1 mg/kg, sc) e no 16º com metanfetamina (2,5 mg/kg, ip). Em cada desafio foi computado o número de rotações de 360º ipsilateral (Ipsi) e contralateral (Contra) por um período de 75 min. Os animais foram sacrificados, os cérebros retirados e congelados para posterior avaliação histológica. **Resultados e Discussão:** No teste de catatonía foi encontrada diferença, representada em média ± erro padrão no tempo de catatonía da dose de 400 mg/kg (CTR 447±48; EC100 335±61; EC400 206±60\*). Quanto ao teste de rotações, o grupo EC 400 mg/kg diferiu do SHAM+EC 400 e do grupo Lesão+água (M±EP) na avaliação ao 14º dia: Ipsi (Lesão 2,5±0,9; SHAM 4,7±2,7; EC 100 8,2±4,2; EC400 14,1±3,9\*). Os desafios com apomorfina e metanfetamina foram efetivos em induzir rotações contra e ipsilateral, respectivamente: 15º dia - contra (SHAM 36,8±28,3; Lesão 112,9±20,2\*) e 16º dia - ipsi (SHAM 56,0±29,5; Lesão 300,8±53,1\*). Os resultados obtidos indicam que o extrato de café utilizado, rico em cafeína, tenha uma ação pró-dopaminérgica. **Referências Bibliográficas:** Trugo, L. *Analyst* 109: 263, 1984; Mendes, F.R. *Arq Bras Fitomed Cient* 2: 56, 2004/2005. Apoio Financeiro: FAPESP



## 09.105

Verificação da atividade anti-estresse do nó-de-cachorro (*Heteropterys aprodisiaca* O. Mach.): comparação entre os extratos das folhas, galhos e raízes. Paula-Freire, L. I. G.; Molska, G. R.; Mendes, F. R.; Carlini, E. L. A. <sup>1</sup>UNIFESP - Psicobiologia

**Introdução:** *Heteropterys aprodisiaca* (HA) é uma planta usada popularmente como afrodisíaca, rejuvenescedora e para melhorar o estado geral, usos condizentes com de plantas adaptógenas. **Metodologia:** Foram utilizados extratos hidroalcoólicos de folhas(F), galhos(G) e raízes(R) de HA. No teste de imobilização induzindo auto-analgesia, camundongos *Swiss* machos foram tratados por 7 dias com os extratos (100 e 300 mg/kg –vo) e 1h após a última administração, submetidos à placa quente e então imobilizados em caixas contensoras por 30'. A submissão à placa quente foi imediata à imobilização. No teste de estresse induzido por imobilização e frio, ratos *Wistar* foram tratados por 14 dias (vo) com água: controle estresse (CTR) e controle sem estresse (CTR-SE) ou os 3 extratos de HA (100 e 300 mg/kg), e submetidos nos últimos 7 dias a 2h de imobilização em caixas contensoras e 2h de exposição ao frio (10°C). Ao 14º dia os ratos foram imobilizados em tela de arame e levados para a câmara fria por 2h. Após sacrifício, avaliou-se ulceração e peso de timo, baço e adrenais. **Resultados e Discussão:** O teste de imobilização induzindo auto-analgesia parte do princípio que o estresse induz liberação de endorfinas, levando os animais a um quadro de analgesia quando submetidos a testes de dor. Uma vez que o efeito esperado dos adaptógenos é diminuir a resposta de estresse, estes modelos podem ser empregados para avaliar sua ação. A imobilização em caixas contensoras foi efetiva em induzir auto-analgesia no grupo CTR, mas os extratos usados não foram capazes de reverter este quadro comparado ao CTR-SE (CTR:13,3 ± 1,3; CTR-SE:7,5 ± 0,8\*; R100 mg/kg:13,9 ± 1,3; R300 mg/kg: 11,1 ± 1,0; G100 mg/kg:10,7 ± 1,4; G300 mg/kg:15,2 ± 2,6; F100 mg/kg:12,5 ± 2,7; F300 mg/kg:12,6 ± 1,4\*; \* estatisticamente diferente do CTR). O estresse atua sobre o eixo HPA promovendo aumento na produção de glicocorticóides e, conseqüentemente, alterações em órgãos alvos, como adrenais, baço e timo. O protocolo de imobilização e frio foi efetivo em induzir ulceração, diminuição do peso do timo e baço e aumento do peso das adrenais em relação ao grupo CTR-SE. Porém, nenhum extrato diferiu do grupo CTR, embora os de galho e a dose de 100 mg/kg de folha também não tenham diferido do grupo CTR-SE quanto ao índice de ulceração (CTR:22,3 + 3,4; CTR-SE:6,4 + 1,9\*; R100 mg/kg:24,9 + 4,9<sup>#</sup>; R300 mg/kg:24,5 + 5,5<sup>#</sup>; G100 mg/kg:14,7 + 3,5; G300 mg/kg:20,2 + 4,1; F100 mg/kg:18,0 + 3,8; F300 mg/kg:27,6 + 4,3<sup>#</sup>; \* estatisticamente diferente do CTR; # estatisticamente diferente do CTR-SE). Os resultados obtidos até o momento não indicam efeito anti-estresse dos extratos de HA. Apoio Financeiro: FAPESP

## 09.106

Papel do óxido nítrico e de grupos sulfidrílicos não-protéicos na ação gastroprotetora de fração obtida do látex de *Carica candamarcensis*. Silva, A. C. A.; Salas, C. E.; Lopes, M. T. P. <sup>1</sup>UFMG - Farmacologia; <sup>2</sup>UFMG - Bioquímica e Imunologia

**Introdução:** O látex de *C. candamarcensis* vem sendo caracterizado bioquímica e farmacologicamente por nosso grupo. A fração P1G10, obtida por Sephadex G10, rica em cisteína e proteinases, mostrou ter atividades citoprotetora e cicatrizante gástricas, em diferentes modelos lesões agudas e de úlceras crônicas. Este trabalho visa avaliar a participação do óxido nítrico (NO) e dos grupamentos sulfidrílicos não-protéicos (GSH-NP) na ação gastroprotetora de P1G10 no modelo de lesões gástricas por indometacina (Indo) em ratos.

**Métodos:** Ratas Wistar, pesando entre 180-200 g, foram submetidas a jejum de 24 h. Na avaliação da participação do NO na gastroproteção, os animais (n=30) foram tratados com inibidor da síntese de NO, L-NAME (100 mg/kg, *i.p.*) ou salina. Após 30 min, foram tratados (*p.o.*) com água (10mL/Kg) ou P1G10 (10 mg/kg). Indo (50 mg/kg, *s.c.*) foi administrada 30 min depois para indução das lesões gástricas (Djahanguiri, B. *Scand. J. Gastroenterol.*, 4:265, 1969). O tratamento com água e P1G10 foi repetido 3h após o primeiro e 5h depois da administração de Indo, os animais foram sacrificados e nos estômagos contabilizados os Índices de Lesões Ulcerativas (ILU). Para avaliar a participação dos GSH-NP, os animais (n=25) foram pré-tratados com água (10mL/kg), P1G10 (10 mg/kg) ou carbenoxolona (200 mg/kg) e tiveram as lesões gástricas induzidas por Indo, como descrito acima. Após 5 h, os animais foram sacrificados, seus estômagos retirados e congelados a -70°C até a dosagem dos níveis de GSH (Sedlak, J. et. al. *Anal Biochem* 25:192-205, 1968). Análises estatísticas - ANOVA, pós-teste Dunnett,  $p < 0,05$ . **Resultados:** A fração P1G10 demonstrou atividade gastroprotetora no modelo estudado, uma vez que foi capaz de reduzir ILU em 72% ( $6,50 \pm 0,35$ ) em comparação com os animais controle ( $23,50 \pm 0,88$ ). A administração de L-NAME promoveu um aumento do ILU nos animais lesados com Indo ( $33,76 \pm 1,29$ ), em relação ao grupo controle. Entretanto, nos animais tratados com P1G10, a administração de L-NAME ( $6,80 \pm 1,29$ ) não foi capaz de aumentar significativamente o ILU. Com relação a participação dos GSH-NP, P1G10 foi capaz de aumentar os níveis de GSH em 42% ( $397,92 \pm 16,54 \mu\text{g/g}$ ) em relação ao controle ( $279,74 \pm 4,36 \mu\text{g/g}$ ). Em animais não-lesados, P1G10 aumentou em 18% ( $433,16 \pm 36,32 \mu\text{g/g}$ ) os níveis destes compostos em relação ao grupo Sham (controle não-lesado -  $368,04 \pm 23,42 \mu\text{g/g}$ ). **Conclusão:** Os resultados sugerem que a ação gastroprotetora de P1G10 não depende da produção de NO e que os efeitos protetores da fração são devidos, ao menos em parte, à produção de grupos sulfidrílicos não-protéicos. Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG e CAPES.

## 09.107

Mecanismo de ação gastroprotetor do ácido elágico. Beserra, A. M. S. S.<sup>1</sup>; Calegari, P. I.<sup>1</sup>; Souza, M. C.<sup>1</sup>; Santos, R. A. N.<sup>2</sup>; Lima, J. C. S.<sup>1</sup>; Silva, R. M.<sup>1</sup>; Martins, D. T. O.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFMT-DCBS-FCM; <sup>2</sup>UNIC - Farmácia

**Introdução:** O Ácido Elágico (AE) é uma lactona fenólica presente principalmente em frutas. O objetivo deste estudo foi avaliar o mecanismo gastroprotetor do AE em modelos experimentais de úlcera gástrica. **Métodos:** O AE foi administrado nas doses de 3, 10 e 30 mg/kg vo, em ratos Wistar (n = 8-10/grupo). A úlcera por etanol 75% (10 mL/Kg) foi utilizada para determinação dos efeitos do AE nos níveis de GSH, muco e TNF- $\alpha$  bem como para avaliar o papel do NO em animais pré-tratados com L-NAME (30 mg/kg sc). Os papéis da PGE<sub>2</sub> e do LTB<sub>4</sub> na resposta do AE foram avaliados na úlcera por indometacina. Adicionalmente, utilizou-se a úlcera crônica por ácido acético 20% para determinação dos níveis de TNF- $\alpha$ . **Resultados:** O AE reduziu as lesões gástricas por etanol atingindo seu maior efeito com 10 mg/kg (redução de 79%, p<0,001). Os níveis de GSH depletados na úlcera por etanol (de 261 $\pm$ 10  $\mu$ g/g no grupo não ulcerado para 119 $\pm$ 4 $\mu$ g/g no grupo ulcerado, p<0,001) foi revertido parcialmente com 3 mg/kg de AE (215 $\pm$ 13  $\mu$ g/g, p<0,001). O L-NAME intensificou a área ulcerada por etanol (de 16 $\pm$ 2% no veículo para 24 $\pm$ 3%, p<0,05), bloqueando o efeito antiúlcera com 10 mg/kg de AE (de 5 $\pm$ 1 para 20 $\pm$ 3%, p<0,01). O AE reduziu o índice de úlcera por indometacina, atingindo seu maior efeito com 3 mg/kg (redução de 82%, p<0,01) e os níveis de LTB<sub>4</sub> nas doses de 3 e 10 mg/kg (309 $\pm$ 6 e 306 $\pm$ 11pg/mL) em relação ao veículo (360 $\pm$ 8 pg/mL, p<0,01). Na úlcera por ácido acético, o AE não diminui a área ulcerada, mas reduziu a espessura da lesão, atingindo seu maior efeito com 3 mg/kg (de 3,5 $\pm$ 0,3mm no veículo para 2,2 $\pm$ 0,1mm, p<0,001). Os níveis de TNF- $\alpha$ , foram reduzidos de forma mais intensa com 10 mg/kg de AE, tanto na úlcera por ác. acético (de 19 $\pm$ 3 no veículo para 7 $\pm$ 1pg/mL, p<0,001) quanto por etanol (de 11 $\pm$ 1 no veículo para 6 $\pm$ 1pg/mL, p<0,01). O muco gástrico na úlcera por etanol e os níveis de PGE<sub>2</sub> na úlcera por indometacina não foram alterados pelo AE. **Discussão:** Na literatura, o AE é conhecido por suas propriedades antioxidante, antiinflamatória e antiulcerogênica. O aumento observado dos níveis de GSH gástrico pelo AE, já descrito para outros tecidos, contribui para sua ação antiúlcera, e não está relacionada ao muco, já que a concentração deste não foi alterada na úlcera por etanol. Aparentemente o NO, um agente protetor da mucosa gástrica, desempenha papel importante no efeito gastroprotetor do AE. PGE<sub>2</sub> e LTB<sub>4</sub> estão envolvidos de forma inversa na integridade da mucosa gástrica. A redução do LTB<sub>4</sub> pelo AE contribui para seu efeito gastroprotetor, sendo este independente da PGE<sub>2</sub>. A redução dos níveis de TNF- $\alpha$ , uma citocina lesiva à mucosa gástrica, contribui para o efeito gastroprotetor do AE na úlcera por etanol e por ác. acético. Apoio Financeiro: CNPq; Centro de Pesquisa do Pantanal – CPP; FAPEMAT.

## 09.108

Cytotoxic activity of fungi strains isolated from the Brazilian ascidian *Eudistoma vannamei*. Rodrigues, F. A. R.<sup>1</sup>; Jimenez, P. C.<sup>1</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Montenegro, T. G. C.<sup>2</sup>; Oliveira, M. C. F.<sup>2</sup>; Angelim, A. L.<sup>3</sup>; Melo, V. M. M.<sup>3</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Química Orgânica e Inorgânica; <sup>3</sup>UFC - Biologia

**Introduction:** *Eudistoma vannamei* is an endemic ascidian found on the northeast coast of Brazil. Previous studies considering the pharmacological potentials of its hydro-alcoholic extract have led to the recognition of novel and interesting cytotoxic compounds. Recently, the investigation of endosymbiont fungi from marine invertebrates as a source of bioactive compounds was initiated in our group. In this study, we report the preliminary results of a screening for cytotoxicity on cultured tumor cell lines of extracts derived from 11 fungi strains isolated from *E. vannamei*. **Material and Methods:** Ascidian specimens were collected at Taíba Beach (Ceará State, Brazil). Under sterile conditions, the material was macerated and plated on potato-dextrose agar. Eleven strains (EV1 - EV11) were isolated as endosymbiont fungi from *E. vannamei*. All strains were grown for 21 days under static conditions and room temperature in potato-dextrose broth brought up with synthetic sea water. Mycelium was separated from the liquid medium by vacuum filtration and extracted with methanol (3 x 100 mL), while the broth was extracted with ethyl acetate (3 x 100 mL). Solvent was evaporated under vacuum yielding the correspondent organic extracts (EtOAc and MeOH). Further partitions were carried out using acetonitrile and hexane with the active organic extracts, thus yielding the correspondent phases. All samples were tested for cytotoxicity against 3 human tumor cell lines, SF-295 (glioblastoma), HCT-8 (colon carcinoma) and MDA-MB435 (melanoma), using the MTT assay. **Results and Discussion:** Six out of the 11 EtOAc broth extracts inhibited tumor cell growth (50 µg/mL) (growth inhibition >90%). For the 11 MeOH mycelia extracts, 4 were found to be active at 50 µg/mL. Strains EV6, EV9, EV10 and EV11 showed cytotoxic activity on both, the broth and the mycelia extracts, while EV4 and EV5 had only a bioactive broth extract. None of the hexane partitions were active on the MTT assay. Acetonitrile partitions from most of the active EtOAc broth extracts (EV4, EV6, EV10 and EV11) remained active, inhibiting 100% of all cell growth at 50 µg/mL, while EV9 showed a 37 to 97% cell growth inhibition on the different cell lines. Further studies will consider the bioassay-guided fractionation of the active extracts, while aiming at the isolation of the active compounds. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP and Institute Claude Bernard.

## 09.109

Heme-oxygenase activity in skeletal muscle injected with *Bothrops jararacussu* snake venom. Scatamburlo, RMB; Saccon, C. M. T.; Hyslop, S. UNICAMP – Farmacologia

**Introduction:** Heme-oxygenase (HO) mediates the degradation of heme, with the formation of biliverdin IX, iron and carbon monoxide (CO). CO shares several physiological properties with nitric oxide (NO), including cyclic GMP-mediated vasodilation. Envenoming by *Bothrops* snakes causes local responses such as edema, hemorrhage and myonecrosis. In this work, we examined the HO activity of skeletal muscle injected with *Bothrops jararacussu* venom.

**Methods:** Male Swiss mice (n=6/group) were lightly anesthetized with halothane and injected with venom (25 µg or 75 µg in 50 µl) in the left gastrocnemius muscle. Control mice received 50 µl of 50 mM phosphate-buffered 150 mM NaCl (vehicle). The mice were killed with halothane 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 h and 7, 14, 21 and 28 days later. In some experiments, the non-selective HO inhibitor ZnDPBG (90 µmol/kg, i.p.) was injected 15 min after the venom (75 µg) and HO activity and muscle damage were assessed 1, 3, 6 and 24 h later. Plasma creatine kinase (CK) was measured enzymatically. HO activity was assayed based as described elsewhere (Badhwar A *et al.*, *Free Radic Biol Med*, **36**, 371, 2004) and muscle samples were processed for histological analysis. The results (mean±S.E.M) were compared statistically with ANOVA and Bonferroni's *t*-test (p<0.05 indicated significance).

**Results:** Both doses of venom produced a biphasic increase in HO activity associated with early muscle damage (1-3 h) and muscle regeneration (7-28 days). CK levels peaked within 1-3 h but decreased by 6 h (137±6, 2878±230, 5594±613 and 937±139 U/l for 0, 1, 3 and 6 h, respectively; n=6). ZnDPBG attenuated the increase in HO activity only 1 h and 3 h after venom (40±8% and 41±12% inhibition, respectively; n=6); CK activity (1533±428 and 3633±326 U/l; p<0.05; n=6) and histological damage (38±11% and 20±5% inhibition; n=6) were also attenuated after 1 and 3 h, respectively.

**Conclusion:** HO activity was increased in muscle injected with *B. jararacussu* venom. ZnDPBG attenuated this increase and the early myonecrosis, suggesting that enhanced CO formation contributes to the pathogenesis of venom-induced lesions. HO inhibitors could be a useful ancillary measure to treating venom-induced lesions. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP.

## 09.110

Proteolytic activities in skeletal muscle injected with *Bothrops jararacussu* snake venom. Saccon, C. M. T.<sup>1</sup>; Scatamburlo, R. M. B.<sup>1</sup>; Gomes-Marcondes, M. C. C.<sup>2</sup>; Hyslop, S.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>UNICAMP - Farmacologia; <sup>2</sup>UNICAMP - Fisiologia e Biofísica

**Introduction:** *Bothrops* snake venoms produce marked local effects (edema, hemorrhage and necrosis) mediated primarily by myotoxic phospholipases and metalloproteinases. Muscle damage frequently involves the activation of intracellular proteolytic pathways. In this work, we investigated the activities of lysosomal cathepsins, calcium-dependent calpain and the proteasome in mouse skeletal muscle injected with *Bothrops jararacussu* venom. **Methods:** Male Swiss mice (n=6/group) were lightly anesthetized with halothane and injected with venom (25 µg or 75 µg in 50 µl) in the left gastrocnemius muscle. Control mice received 50 µl of 50 mM phosphate-buffered 150 mM NaCl (vehicle). The mice were killed with halothane 1, 3, 6, 12, 24, 48 and 72 h and 7, 14, 21 and 28 days later and the muscles were processed for histological analysis and for fluorometric or colorimetric assays of calpain, cathepsins B and H and proteasome (caspase, chymotrypsin and trypsin). Plasma creatine kinase (CK) was quantified in blood collected at sacrifice. The results (mean±S.E.M.) were compared statistically with ANOVA and Dunnett post test (p<0.05 indicated significance). **Results:** Proteasomal enzymatic activity was significantly reduced (20-50%; p<0.05) during the first 48 h after venom injection, followed by a return to basal levels; in some cases there was a slight but significant increase in activity at certain intervals from 7 d onwards. Calpain activity increased markedly in the first 6 h (from ~0.25 to ~0.75 U/mg protein), but only with the highest venom dose. Cathepsin B and H activities were stimulated 2-4 fold during muscle regeneration (48 h to 28 d post-venom). These alterations were generally greater with 75 µg of venom. CK was elevated during the first 6 h after envenoming (49±11, 2617±142, 4090±693 and 1414±112 U/l for 0, 1, 3 and 6 h with 75 µg of venom, respectively; n=6). Histological analysis revealed marked hemorrhage and myonecrosis (phase 1, 6-12 h post-venom), a strong inflammatory infiltrate (phase 2, 12-72 h post-venom) and muscle regeneration (phase 3, 7-28 days post-venom) for both doses of venom. **Conclusion:** These results show that *B. jararacussu* venom exerts differential effects on endogenous proteolytic pathways. The activation of calpain could contribute to the muscle damage in phase 1, whereas cathepsin activity may be related to the presence of macrophages in the inflammatory infiltrate. Proteasomal activation is apparently not a major pathway in early muscle damage. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP

## 09.111

Anti-inflammatory and anti-nociceptive activity of ethanolic extract from *Sinningia allagophylla* and *S. aggregata*. Mori, L. S.<sup>1</sup>; Botelho, A.<sup>1</sup>; Kassuya, C. A. L.<sup>1</sup>; Stefanello, M. E. A.<sup>2</sup>; Zamprônio, A. R.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFPR – Química

**Introduction:** Plants from *Sinningia* genus (Gesneriaceae) are Brazilian shrub which has been popularly used as anti-inflammatory and antipyretic. The chemical compounds present in these plants are not well known. Recently, we have shown the presence of sesquiterpenes, phenolic compounds and antraquinones in *S. aggregata* (Stefanello *et al.*, *Rev. Brasil. Farmacog.*, 15, 331, 2005). However, no data has been published to support the ethnopharmacological use concerning the anti-inflammatory activity. **Objective:** In this study we evaluated the acute anti-inflammatory and anti-allodynic activity of oral treatment with an ethanolic extract obtained from the roots and leaves of two species of *Sinningia*, *S. allagophylla* (Mart.) Wiehler (EESAI) and *S. aggregata* (Ker Gawl.) Wiehler (EESAg). **Methods:** Male Swiss mice (25-35 g) received orally EESAI or EESAg (3-100 mg/kg), or vehicle (10 ml/kg). After 1h, carrageenan (Cg, 300 µg/paw) was administrated in the right hind-paw. Paw oedema was measured using a micrometer. Allodynia was evaluated by measuring the paw withdrawal threshold (g) to mechanical stimulation (von Frey hairs, up-down method). **Results:** Oral administration of EESAI (3-100 mg/kg) from the roots significantly inhibited carrageenan-induced the oedema with inhibitions of 44 ± 55% (10 mg/kg), 60 ± 7% (30 mg/kg) and 68 ± 10% (100 mg/kg) 2 h after carrageenan injection. At 3 mg/kg no significant inhibition was observed. The mean ID<sub>50</sub> value observed was 24.68 (9.46 – 64.41) mg/kg. The EESAI from the leaves (100 mg/kg) similarly inhibited the oedema. The mechanical allodynia induced by carrageenan after 4 hs was also inhibited by EESAI (30 mg/kg) from the roots (77 ± 13%). EESAg inhibited carragenan-induced oedema at 100 mg/kg (42%). Lower and higher doses did not show any effect on oedema or allodynia. **Conclusion:** This study shows that *S. allagophylla*, but not *S. aggregate*, have compounds that may exhibit anti-inflammatory and anti-nociceptive activity which justify its ethnopharmacological use. Further studies have been carried out to identify these compounds. Apoio Financeiro: CNPq and CAPES

## 09.112

Efeitos antiinflamatórios de antocianinas extraídas da amora silvestre (*Morus nigra*). Hassimotto, N. M. A.<sup>1</sup>; Moreira, V.<sup>2</sup>; Nascimento, N. G.<sup>2</sup>; Souto, P.<sup>2</sup>; Teixeira, C. F. P.<sup>2</sup>; Lajolo, F. M.<sup>1</sup> <sup>1</sup>Ciências Farmacêuticas, USP - Alimentos e Nutrição Experimental; <sup>2</sup>Instituto Butantan – Farmacologia

**Introdução:** Antocianinas são pigmentos naturais pertencentes à família dos flavonóides e estão normalmente presentes na dieta humana, como em frutas, verduras, legumes e chás. Estes compostos são atualmente considerados como bioativos de alimentos, por apresentarem efeitos antioxidantes e anticancerígenos e um papel ativo na prevenção da inflamação. Assim, os objetivos deste trabalho foram investigar as ações antiinflamatórias de antocianinas extraídas da amora silvestre (*Morus nigra*) sobre o influxo leucocitário e expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2), em modelo de peritonite, e sobre o edema de pata, induzidos por carragenina (CA). **Métodos:** Camundongos Swiss machos receberam administração de extrato enriquecido de antocianinas de amora silvestre (manto) e de cianidina-3-glucosídeo (Cy-3-glu) (4 mg cianidina/100 g peso corpóreo, p.o.) 30 min antes ou 1h após a administração de CA. Após 3h da injeção i.p. de CA (0,3%,v/v) efetuou-se a coleta do exsudato peritoneal, para a determinação do número de leucócitos, em câmara de Neubauer, a partir de alíquotas diluídas em Turk (1:20; v/v) e para a contagem diferencial, de células coradas com Rosenfeld. Nestes leucócitos, a expressão de COX-2 foi analisada por RT-PCR e por *western blot*. O edema de pata foi medido por pletismografia, de 1 a 6h, após a injeção i.pl. de CA (0,5%, v/v). **Resultados:** Os resultados mostraram que administração de MAnto 30 min antes de CA causou redução do número de leucócitos polimorfonucleares (PMN) no exudato. O controle apresentou valor de PMN de  $6,6 \pm 1,5 \times 10^6$  céls/mL, a CA de  $73,9 \pm 4,7 \times 10^6$  céls/mL, o MAnto de  $56,9 \pm 3,5 \times 10^6$  céls/mL (23% inibição). A Cy-3-glu reduziu o influxo de PMN quando administrada 1h após CA: Controle ( $0,23 \pm 0,01 \times 10^6$  céls/mL), CA ( $50,4 \pm 0,6 \times 10^6$  céls/mL) e Cy-3-glu ( $31,8 \pm 4,1 \times 10^6$  céls/mL) correspondendo à inibição de 37%. Tanto MAnto quanto a Cy-3-glu, administrados 30 min antes ou 1h após CA, inibiram a expressão gênica e protéica de COX-2 ( $p < 0,05$ ) com valores percentuais entre 40 a 80%, dependendo do protocolo aplicado. O edema de pata foi reduzido pelo MAnto e Cy-3-glu ( $p < 0,05$ ), nos dois tratamentos, sendo este efeito mais efetivo pela cy-3-glu, 30 min e 1h após CA (76 e 80%, respectivamente). **Discussão:** Estes resultados indicam que as antocianinas de amora silvestre apresentam atividade inibitória sobre o desenvolvimento da fase aguda da resposta inflamatória. Além disso, parte do efeito destas substâncias, pode decorrer da interferência da ação mediada pela expressão de COX-2. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq.



### 09.113

Amyrin octanoate, a semi-synthetic derivate of alpha and beta-amyrin, attenuates lung inflammation induced by carrageenan in mice. Marcon, R.<sup>1</sup>; Claudino, R. F.<sup>1</sup>; Bento, A. F.<sup>1</sup>; Soldi, C.<sup>2</sup>; Pizzolatti, M. G.<sup>2</sup>; Santos, A. R. S.<sup>3</sup> <sup>1</sup>UFSC - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Quimica; <sup>3</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas

**Introduction:** The anti-inflammatory effects of the Amyrin octanoate (AO), a semi-synthetic derived from alpha and beta-amyrin was evaluated in this study. Previous data from our group have demonstrated that AO was capable to decrease the inflammatory effect of formalin (Soldi, *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 3377, 2008). **Methods:** Male Swiss mice (25-30 g) were used. To evaluate the degree of exudation into the pleural cavity, animals received an Evans blue dye solution (25 mg/kg, 0.2 ml, e.v.), 1 h before the pleurisy induction. Pleurisy was induced by injection of 0.1 mL of carrageenan (CG, 1 %) into the right pleural cavity. Instead of carrageenan, control animals received sterile saline solution (0.1 mL) in the pleural cavity. The animals were killed at 2, 4, 8 and 24 h after CG injection and the lung tissue was removed to evaluate the mieloperoxidase (MPO) activity. Furthermore, 1 mL of exudates from pleural cavity was collected and plasma extravasations and total and differential of cells were determined in all time points. In another experimental group, the animals were treated with an intraperitoneal (i.p.) injection of AO (0.1 – 10 mg/kg) or dexamethasone (DEX, 0.5 mg/kg s.c.). The drugs were administered 30 min and 1 h before pleurisy induction, respectively. Besides, 1 mL of exudates from pleural cavity was collected and plasma extravasations and total and differential of cells were determined. **Results:** Intrapleural injection of carrageenan induced a marked inflammatory response characterized mainly by leukocytes recruitment and increased MPO activity at 4, 8 and 24 h after pleurisy. The plasma exudation in all time points was increased. In addition, mononuclear leukocytes did not have difference between times. The total leukocyte in Cg group was  $5.45 \times 10^6$  cell and  $0.66 \times 10^6$  cell in saline group. In addition, pretreatment with AO significantly reduced the total leukocytes with inhibition at  $57 \pm 10$  % (10 mg/kg) while the DEX inhibited  $63 \pm 8$  %. The ID<sub>50</sub> to AO was 4.58 (2.3 – 9.11) mg/kg. The Cg to leave marked increase of neutrophil number  $5.56 \times 10^6$  cell compared with saline group  $0.30 \times 10^6$  cell into the pleural cavity. The AO reduced the neutrophil number at  $72 \pm 5$  % (10 mg/kg) and ID<sub>50</sub> calculated was 4.68 (2.65–8.27) mg/kg, DEX inhibited this parameter in  $71 \pm 11$ %. The amount of mononuclear cells was altered by neither AO nor DEX treatments. DEX, but not AO, was able to inhibit the plasma extravasations in  $33 \pm 7$  %. The MPO activity in Cg control was 1.15 (D.O./mg of tissue) compared with saline group 0.57 (D.O./mg of tissue). Furthermore, the pretreatment with AO or DEX significantly inhibited the MPO activity by 95.6% and 93.5%, respectively. **Discussion:** Our results demonstrated that CG exhibited strong inflammatory activity with great increase in the plasma extravasations and cellular migration. Furthermore the results taken together demonstrate that AO in the future might represent new therapeutic for treating inflammatory conditions, especially those of the respiratory tract. Apoio Financeiro: CNPQ, CAPES, UFSC

**09.114**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

### 09.115

Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto da *Salvia officinalis* em roedores. Fonseca, J. P.; Farinha, T. O.; Schmidt, G.; Dantas, J. A.; Caparroz-Assef, S. M.; Bersani-Amado, C. A.; Cuman, R. K. N. <sup>1</sup>UEM - Farmacia e Farmacologia

**Introdução:** A espécie vegetal *Salvia officinalis* L. (*Lamiaceae*) é conhecida popularmente como Sálvia. O extrato bruto obtido das folhas desta planta tem sido utilizado na medicina popular para o tratamento de diversas enfermidades, desde o desconforto gastrointestinal até processos infecciosos. No presente estudo foi investigado o efeito do extrato bruto hidroalcolólico liofilizado das folhas da *Salvia officinalis* (SAL) sobre a resposta inflamatória, utilizando os seguintes testes: pleurisia induzida por carragenina e o edema de orelha induzido por óleo de cróton. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (180-200 g) e camundongos Swiss (25-30 g). No teste de pleurisia, os ratos foram tratados com o extrato bruto liofilizado (200, 400 e 800 mg/kg), por via oral, 30 minutos antes da injeção intrapleural de carragenina (200 µg). Na 4ª hora após a indução da reação, o exsudato pleural foi coletado para a determinação do volume e do número de leucócitos migrados. O edema de orelha foi induzido pela aplicação tópica de óleo de cróton (200 µg) na face interna das orelhas de camundongos. A seguir foram aplicados topicamente 20 µl do extrato de SAL (0,312; 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 mg) na orelha esquerda e 20 µl do veículo na orelha direita. Após 6 horas os animais foram sacrificados, as orelhas seccionadas e pesadas em balança analítica. Os dados foram avaliados por Análise de Variância seguida pelo teste de Tukey. **Resultados:** Através do teste da pleurisia foi observado não haver diferença significativa no volume do exsudato inflamatório pleural e na migração de leucócitos quando comparados os grupos de animais controle e os tratados com o extrato bruto de SAL, nas diferentes doses de extrato testadas. A indometacina (5 mg/kg) promoveu uma redução significativa no volume de exsudato e no número de leucócitos migrados. A aplicação do óleo de cróton induziu uma reação inflamatória intensa na orelha de camundongos. O extrato bruto de SAL, nas doses de 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 mg, inibiu significativamente a intensidade do edema de orelha (64% P<0,001; 68% P<0,001, 73% P<0,001; 75% P<0,001, respectivamente). Houve uma inibição do edema pelo tratamento com indometacina (1 mg), semelhante ao observado com extrato. **Discussão:** Os resultados preliminares obtidos com o extrato de SAL sugerem que este extrato não apresenta efeito antiinflamatório (redução do edema e migração celular) quando administrado por via oral. Entretanto, foi demonstrado um efeito antiedematogênico significativo por via tópica. Apoio Financeiro: CAPES/CNPq/FADEC

## 09.116

Triagem antibacteriana *in vitro* de plantas medicinais mato-grossenses. Lima, F. C. R.; Souza, M. C.; Martins, D. T. O.; Silva, R. M. DCBS-FCM-UFMT Farmacologia

**Introdução:** Em decorrência do constante aumento de resistência às drogas disponíveis, estudos antimicrobianos com produtos naturais têm crescido. Buscando-se confirmar a atividade antibacteriana de plantas usadas popularmente, extratos hidroalcoólico de *Calophyllum brasiliense*, *Lafoensia pacari*, *Hyptis crenata*, *Simaba ferruginea* e *Strypnodendros sp.* foram testados contra as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 25923). **Métodos:** A atividade antibacteriana das plantas citadas foi avaliada pelo método de difusão em disco e a microdiluição em caldo. Para o primeiro, utilizou-se discos estéreis (6 mm-Newprov<sup>®</sup>) impregnados com 25µL de cada dose dos extratos em doses crescentes (0,0625 a 1 mg/disco). Os discos foram depositados na superfície da placa inoculada com a bactéria a ser testada ( $6 \times 10^8$  UFC/mL-escala 2 de Mc Farland) e incubados a 37°C por 24 horas. O cloranfenicol foi utilizado como droga padrão (15µg-CECON<sup>®</sup>). Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), a cada poço da microplaca, foi colocado 100 µL de caldo Mueller Hinton inoculado com a bactéria a ser testada ( $6 \times 10^8$  UFC/mL-escala 2 de Mc Farland), acrescido de 100µL dos extratos para obtenção da concentração final crescente de 0,0625 a 1 mg/mL, e incubada a 37°C por 24 horas. Amoxicilina (50 mg/mL) foi a droga padrão. **Resultados:** A atividade antibacteriana pelo método de difusão em disco das plantas *C. brasiliense* e *L. pacari* mostraram-se ativas contra *S. aureus* apresentando halos de inibição de 12, 10, 8 e 16, 14, 10 mm, respectivamente para as doses de 1, 0,5 e 0,25 mg/disco, não tendo apresentado halos de inibição contra *E. coli*. O cloranfenicol apresentou halo médio de 18 mm. Da entrecasca de *C. brasiliense* a CIM determinada foi 62µg/mL apresentando alta atividade. Das folhas a CIM foi 500 µg/mL, com moderada atividade. Para *E.coli* não houve atividade. **Discussão:** Exames posteriores precisam ser feitos para elucidar o mecanismo de ação dessas plantas sobre *S. aureus* que é uma bactéria Gram positiva. Porém esses resultados justificam o uso de plantas medicinais tradicionalmente utilizadas no combate às diversas infecções. Apoio Financeiro: FAPEMAT; CAPES; CPP

**09.117** Atividade antibacteriana *in vitro* das folhas e entrecasca de *Calophyllum brasiliense*. Lima, F. C. R.; Souza, M. C.; Martins, D. T. O.; Silva, R. M. DCBS-FCM-UFMT Farmacologia

**Introdução:** *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), conhecida popularmente como guanandi, possui propriedades antibacterianas, antifúngica e inibitória da replicação do HIV-1. Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antibacteriana de diversos extratos em polaridade crescente das folhas e entrecasca de *C. brasiliense* nas bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 25923). **Métodos:** A atividade antibacteriana de *C. brasiliense* foi avaliada pelos métodos de difusão em disco e microdiluição em caldo. Para o primeiro, foram utilizados discos estéreis (6 mm-Newprov<sup>®</sup>) impregnados com 25µL dos extratos em doses crescentes (0,0625 a 1 mg/disco) ou cloranfenicol (15 µg-CECON<sup>®</sup>). Os discos foram depositados na placa inoculada com a bactéria a ser testada ( $6 \times 10^8$  UFC/mL-escala 2 de Mc Farland) e incubados a 37°C por 24 horas. Para determinação da CIM, cada poço recebeu 100 µL de caldo Mueller Hinton inoculado com a bactéria a ser testada ( $6 \times 10^8$  UFC/mL-escala 2 de Mc Farland), acrescido de 100 µL dos extratos obtendo-se concentração final crescente de 0,0625 a 1 mg/mL ou Amoxicilina (50 mg/ml) e incubada a 37°C/24h. **Resultados:** Das folhas, para *S. aureus*, os extratos hexânico e acetato de etila apresentaram halos de inibição de 10 e 8 mm nas doses de 1 e 0,5 mg/disco, respectivamente. Os extratos diclorometano, metanólico e hidroalcoólico das folhas nas doses de 1; 0,5; 0,25, 0,125 e 0,0625 mg/disco apresentaram halos de inibição de 20, 18, 15, 13, 15 mm; 22, 20, 15, 12, 8 mm e 12, 10, 8, 0 e 8 mm respectivamente. Da entrecasca, o extrato hidroalcoólico nas doses de 1, 0,5 e 0,25 mg/disco apresentou halos de inibição de 13, 10 e 8 mm e nos extratos hexânico, diclorometânico, acetato de etila e metanólico nas doses de 1, 0,5, 0,25, 0,125 e 0,0625 mg/disco, apresentou os halos: 20, 20, 17, 16, 13 mm; 18, 15, 15, 13. 12 mm; 12, 10, 8, 8, 10 mm; 13, 10, 10, 8, 8 mm, respectivamente. Não houve atividade contra *E. coli*. Da entrecasca, os extratos hexânico, diclorometano e hidroalcoólico obtiveram CIM de 62µg cada um e o metanólico 31 µg sendo considerados alta atividade, o acetato de etila obteve valor de 500 µg classificado como moderada atividade. Das folhas, os extratos hexânico, diclorometano e hidroalcoólico obtiveram CIM de 500 µg e o acetato de etila e metanol apresentaram CIM de 250 µg. Para *E.coli* somente os extratos acetato de etila e metanólico apresentaram CIM de 500 µg. **Discussão:** Os resultados obtidos confirmam a atividade do *C. brasiliense* contra *S. aureus*, porém não se mostrou ativo contra *E. coli*. Futuros estudos são necessários para elucidar o mecanismo de ação. Apoio Financeiro: FAPEMAT; CAPES; CPP

### 09.118

Neutrophil migration induced by supernatant of macrophage cultured with sulfated polysaccharide isolated from *Champia feldmannii*. Lacerda, K. O. A.<sup>1</sup>; Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Farias, W. R. L.<sup>2</sup>; Pessoa, C.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Moraes, M. O.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Engenharia de Pesca

**Introduction:** Polysaccharides represent a very interesting class of macromolecules, widely spread in nature, abundantly present in seaweeds and with immunomodulatory and anticancer properties (Ooi, *Cur. Med. Chem.*, 7:715, 2000). Previously works show that the sulfated polysaccharide isolated from *Champia feldmannii* (Cf-PLS) has edematogenic activity and increases vascular permeability (Assreuy, *Biol. Pharm. Bull.*, 31:691, 2008). The aim of this study was to investigate whether supernatant of macrophages cultured with Cf-PLS induce neutrophil migration. **Methods:** The animals were obtained from the central animal house of Universidade Federal do Ceará, Brazil. The protocols were approved by the ethical committee of Universidade Federal do Ceará for use in experimental animals. A culture was made of macrophages isolated from the peritoneal cavity of Swiss mice. After 1h of adherence at 37°C, Cf-PLS (1, 10, 100 µg/mL) was added to the culture for 1h and then the cells were washed with RPMI and incubated again for 3h. After that, 100 µL of the supernatant was injected i.p. into Swiss mice and 4h later the mice were sacrificed and the number of neutrophil on the peritoneal cavity was counted. Zymosan (10 µg/mL) was used as positive control. **Results and Discussion:** The number of neutrophil at the peritoneal cavity of mice was significantly increased by Cf-PLS 10 µg/mL ( $46,5 \times 10^4$  cell/mL) and 100 µg/mL ( $121,5 \times 10^4$  cell/mL) 2h compared to saline ( $7,2 \times 10^4$  cell/mL) and also compared to positive control ( $31,2 \times 10^4$  cell/mL). These results suggest that Cf-PLS isolated from *Champia feldmannii* activates macrophages to induce neutrophil migration in mice. This corroborates with previously studies demonstrating that Cf-PLS act as an immunostimulant. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute.

### 09.119

Proinflammatory activity of an alginate isolated from *Sargassum vulgare*. Lacerda, K. O. A.<sup>1</sup>; Bezerra, D. P.<sup>1</sup>; Vale, M. L.<sup>1</sup>; Ribeiro, R. A.<sup>1</sup>; Costa-Lotufo, L. V.<sup>1</sup>; Farias, W. R. L.<sup>2</sup> <sup>1</sup>UFC - Fisiologia e Farmacologia; <sup>2</sup>UFC - Engenharia de Pesca

**Introduction:** Seaweeds have caused an emerging interest in the biomedical area due to their content on pharmacologically bioactive substances. It has been demonstrated that two alginates with different viscosity can be obtained from the algae *Sargassum vulgare*, and they present antitumor activity in Sarcoma-180 bearing mice (Sousa, *Carbohydr. Polym.*, 69:7, 2006). The aim of this study was to investigate whether the alginate with the highest viscosity (SVHV) isolated from *S. vulgare* has proinflammatory activity. **Methods:** The alginate (SVHV) was isolated from *S. vulgare* as described by Sousa, *Carbohydr. Polym.*, 69:7, 2006. The animals were obtained from the central animal house of Universidade Federal do Ceará, Brazil. The protocols were approved by the ethical committee of Universidade Federal do Ceará for use in experimental animals. Rats Wistar were administered subcutaneously in the back paw either with saline, carrageenan (300 µg/mL), dextran (300 µg/mL) or SVHV (100, 300, 1000 µg/mL). The paw edema was then measured after 30, 60, 120, 180 and 240 minutes and compared to control. After that the animals were sacrificed and the paw skin was used to measure the neutrophil migration by the myeloperoxidase (MPO) activity. **Results and Discussion:** The paw edema was significantly increased by SVHV at the doses of 300 and 1000 µg/mL (0,2157 ± 0,035; 0,4877 ± 0,076) 2h after the administration when compared to saline (0,05547 ± 0,005). The MPO activity was also increased by SVHV at the doses of 300 and 1000 µg/mL (5,537 ± 1,91; 13,65 ± 1,57) after 2h compared to saline (0,9271 ± 0,40) ( $p < 0,05$ ). These results suggest that the alginate SVHV isolated from *S. vulgare* has proinflammatory activity causing edema and neutrophil migration. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, BNB, FUNCAP, FINEP, Claude Bernard Institute.

**09.120**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**



## 09.121

Relaxant action of labdane-302 involves modulation of K<sup>+</sup>-channels on rat uterus. Travassos, R. A.<sup>1</sup>; Macedo, C. L.<sup>1</sup>; Ribeiro, L. A. A.<sup>2</sup>; Tavares, J. F.<sup>1</sup>; Silva, M. S.<sup>1</sup>; Silva, B. A. da<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPB-LTF; <sup>2</sup>FSM – Farmácia

**Introduction:** species *Xylopia langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) is popularly known as “pimenteira da terra” in Brazil (CORREA, Dic. Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, p. 315, 1984). The fractionation of the ethanol extract obtained from the stem bark of this species yielded a labdane-type diterpene identified as 8(17),12*E*,14-labdatrien-18-oic acid referred here as labdane-302. Previous reports showed that labdane-302 presents antispasmodic effect on rat uterus (RIBEIRO, 2003), so we decide to elucidate its action mechanism in this tissue. **Methods:** rat uterus was suspended in organ bath containing Locke-Ringer solution (pH 7.4) at 32 °C and gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture. Isometric contractions were registered through of force transducer coupled to an amplifier, which was connected to a microcomputer and isotonic contractions were recorded on a smoked drums through levers coupled to kymographs. **Results:** labdane-302 antagonized (pD<sub>2</sub> = 3.61 ± 0.02 ) the contractions induced by carbachol (n=5) in a significant and concentration-dependent manner. The concentration-response curves to carbachol in the presence of labdane-302 (3 x 10<sup>-5</sup>; 10<sup>-4</sup> and 3 x 10<sup>-4</sup> M) was shifted rightward in a non-parallel manner (slope = 0.14 ± 0.04 ). Labdane-302 (10<sup>-4</sup> M) did not relax uterus (n=5) pre-contracted with KCl 60 mM (E<sub>max</sub>= 9.75%), in addition relaxed uterus (n=5) pre-contracted with oxytocin 10<sup>-2</sup> UI (EC<sub>50</sub>= 4.9 ± 0.6 x 10<sup>-5</sup> M). The relaxant potency of labdane-302 was decreased on 7 times (EC<sub>50</sub>= 3.5 ± 1.1 x 10<sup>-4</sup> M). in the presence of CsCl (*p* < 0.001), a non-selective K<sup>+</sup>-channels blocker. **Discussion:** the maintenance of tonic contractions in rat uterus depends mainly of Ca<sup>2+</sup>-influx through voltage gated calcium channels (Ca<sub>v</sub>). Whereas the spasmolytic action mechanism of labdane-302, probably involves modulation of K<sup>+</sup>-channels that, indirectly, can inhibit the Ca<sub>v</sub>-channels leading to spasmolytic effect. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, LTF/UFPB

## 09.122

Spasmolytic activity of the fraction of the total alkaloids from *Solanum paludosum* Moric. root bark on guinea pig ileum. Monteiro, F. S.; Basílio, I. J. L. D.; Agra, M. F.; Bhattacharyya, J.; Silva, B. A. da UFPB-DCF-LTF

**Introduction:** *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) is a herbaceous species, known popularly as "jurubeba-roxa" in the Northeast of Brazil. (AGRA, M. F., *Royal Botanic Gardens*, p. 341, 1999). The chemical study of the crude ethanolic extract and of its aqueous phase obtained from root bark of this species showed the presence of alkaloids and, the pharmacological study showed spasmolytic activity in rat jejunum (Barbosa, J.M.F. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 86, p. 189, 1991; Ataíde, J. R. *Dissertação (mestrado)*, 1982). Therefore, we decided to investigate the spasmolytic activity of the fraction of total alkaloids from *S. paludosum* Moric. root bark (FAT-SP) on guinea pig ileum. **Methods:** guinea pig ileum (n = 5) was suspended in organ bath containing modified Krebs solution (pH = 7.4) at 37 °C, gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture and resting tension of 1 g. Isotonic contractions were recorded on a smoked drums through levers coupled to kymographs. Isometric contractions were registered through force transducer coupled to amplifier, which was connected to a microcomputer. **Results:** FAT-SP (27-750 µg/mL) inhibited in a concentration-dependent manner the phasic contractions induced by carbachol 10<sup>-6</sup> M (IC<sub>50</sub> = 220.0 ± 10.1 µg/mL), however did not antagonized histamine 10<sup>-6</sup> M induced phasic contractions. In addition, FAT-SP also relaxed (1-500 µg/mL) the guinea pig ileum pre-contracted with carbachol 10<sup>-6</sup> M (EC<sub>50</sub> = 38.4 ± 3.8 µg/mL) in a more potent way than when it was pre-contracted with histamine 10<sup>-6</sup> M (EC<sub>50</sub> = 54.2 ± 2.9 µg/mL) or KCl 40 mM (E<sub>max</sub> = 28.6 ± 2.8 %). Furthermore, FAT-SP (27, 81, 243, 500 and 750 µg/mL) caused parallel shifts to the right of the cumulative carbachol-concentration response curves without altering the maximum effect, in a concentration-dependent manner. **Discussion:** the fact of the FAT-SP to have antagonized selectively the phasic contractions induced by carbachol and to have been more potent in relaxing the guinea pig ileum pre-contracted with carbachol, suggest a possible action in level of receptor. This hypothesis was proven, in functional level, by displacement to the right of the cumulative carbachol-concentration-response curves in presence of the FAT-SP without altering the maximum effect. In conclusion, these results indicate that fraction of the total alkaloids from *Solanum paludosum* shows secondary metabolites with potential antimuscarinic action. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, LTF/UFPB.

### 09.123

Inibição de atividades do veneno de *Bothrops leucurus* pela suramina e substâncias planejadas (LASSBio 448). Cons, B. L.; Ricardo, H. D.; Strauch, M. A.; Fernandes, F. F. A.; El-Kik, C. Z.; Tomaz, M. A.; Melo, P. A. UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

**Introdução:** Os acidentes ofídicos por serpentes do gênero *Bothrops* são comuns em todo país e especificamente na região cacauera com maior incidência pela serpente *B. leucurus*. Essa serpente é bem adaptada às plantações de cacau que quase sempre é mixada com a mata atlântica. Investigamos os efeitos deste veneno em camundongos *in vivo* e *in vitro*, e o antagonismo destes efeitos pela suramina e a substância sintética LASSBio 448. **Métodos:** Testamos os efeitos da suramina e LASSBio 448 nas atividades fosfolipásica A2, proteolítica e miotóxica e *in vitro* do veneno de *B. leucurus* em camundongos. A atividade fosfolipásica foi determinada através da adaptação do método turbidimétrico de Marinetti (1965), utilizando como substrato solução de gema de ovo de galinha. A atividade proteolítica foi testada usando o substrato azocaseína de acordo com Garcia *et al.* (1988) na concentração de 10 mg/mL do veneno. A atividade miotóxica *in vitro* e *in vivo* foi descrita por Melo e Suarez-Kurtz (1988b), avaliando o aumento da atividade de creatina quinase após a exposição ao veneno (25 mg/mL), sendo este perfundido isolado ou pré-incubado com suramina e LASSBio 448 (1-30 mM). **Resultados:** A suramina e o LASSBio 448 (30:300mM) inibiram a atividade fosfolipásica em 100% e 40%, respectivamente. Na atividade proteolítica a suramina (30 mM) apresentou inibição de 30% e o LASSBio 448 (300mM) não inibiu esta atividade; Na avaliação da miotoxicidade *in vitro* a suramina (30mM) foi capaz de antagonizar em cerca de 100%. Esta atividade do veneno de *B. leucurus*. **Conclusão:** Os resultados obtidos confirmam observações anteriores da capacidade antiofídica da suramina e também mostram que a suramina pode ser um possível adjuvante na terapia antiofídica. A substância LASSBio 448 apresentou um perfil de inibição parcial dos efeitos provocados pelo veneno de *B. leucurus* indicando a necessidade de mais estudos com diferentes venenos. Apoio Financeiro: FAPERJ; PRONEX; CAPES, CNPq, FUJB-UFRJ

## 09.124

K<sup>+</sup>-channels are involved in the a-norlapachone-induced relaxation on guinea pig ileum. Cavalcante, F. de A.<sup>1</sup>; Martins, I. R. R.<sup>2</sup>; Barbosa, T. P.<sup>2</sup>; Câmara, C. A.<sup>3</sup>; Pinto, A. C.<sup>4</sup>; Vargas, M. D.<sup>5</sup>; Silva, B. A. da<sup>2</sup> <sup>1</sup>UFAL/UFPB; <sup>2</sup>LTF-UFPB; <sup>3</sup>DQ-UFRPE -; <sup>4</sup>IQ-UFRJ; <sup>5</sup>IQ-UFF

**Introduction:** a-norlapachone is a synthetic naphthoquinone derivative from lapachol, natural naphthoquinone isolated of species from *Tabebuia* spp. (Bignoniaceae), popularly known as "ipês". Recently we demonstrated that these naphthoquinones showed spasmolytic activity on guinea pig ileum and previous results showed that a-norlapachone relaxed guinea pig ileum, probably, due to activation of K<sup>+</sup>-channels (Cavalcante *et al.*, 2007). Thus, we decided to investigate what subtype of K<sup>+</sup>-channels was involved in the relaxant mechanism induced by norlapachone on guinea pig ileum. **Methods:** guinea pig ileum was suspended in organ bath containing modified Krebs solution (pH 7.4) at 37 °C, gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture and resting tension of 1 g. Isometric contractions were registered through force transducer coupled to amplifier, which was connected to a microcomputer. **Results:** a-norlapachone relaxant effect (EC<sub>50</sub> = 0.8 ± 0.1 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5) was attenuated significantly in the presence of CsCl (EC<sub>50</sub> = 3.4 ± 0.5 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5), a non-selective blocker of K<sup>+</sup> channels. We decided to investigate what type of K<sup>+</sup> channels participate in this a-norlapachone response. Interestingly, a-norlapachone relaxation was reduced significantly by 10<sup>-5</sup> M glibenclamide (EC<sub>50</sub> = 2.9 ± 0.8 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5), blocker of K<sub>ATP</sub>, 0.3 mM 4-aminopyridine (EC<sub>50</sub> = 4.9 ± 1.0 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5), a blocker of K<sub>V</sub>, 100 nM apamine (EC<sub>50</sub> = 6.7 ± 1.8 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5), blocker of SK<sub>Ca</sub>, 1 mM TEA<sup>+</sup> (EC<sub>50</sub> = 7.2 ± 1.3 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5), blocker of BK<sub>Ca</sub>, and 97 nM iberiotoxin (EC<sub>50</sub> = 1.6 ± 0.4 x 10<sup>-4</sup> M, n = 5), blocker of BK<sub>Ca</sub>. The curve of relaxation of a-norlapachone has been shifted to right on 4, 6, 8, 9 and 20 times in the presence of the K<sup>+</sup> channels selectives blocker (glibenclamide, 4-AP, apamin, TEA<sup>+</sup> and IbTx, respectively). **Discussion:** the relaxant effect of a-norlapachona appears to be due to non-selective activation of K<sup>+</sup>-channels of the type K<sub>ATP</sub>, K<sub>V</sub>, SK<sub>Ca</sub> and BK<sub>Ca</sub>, and the BK<sub>Ca</sub> have a majority participation. Apoio Financeiro: UFAL, CAPES, PIBIC/CNPq and LTF/UFPB.

## 09.125

Free radicals are not participating in the spasmolytic effect of  $\beta$ -norlapachone on guinea pig ileum. Cavalcante, F. de A.<sup>1</sup>; Silva, J. L. V.<sup>2</sup>; Santos, R. F.<sup>2</sup>; Barbosa, T. P.<sup>3</sup>; Câmara, C. A.<sup>2</sup>; Pinto, A. C.<sup>4</sup>; Vargas, M. D.<sup>5</sup>; Silva, B. A. da<sup>2</sup> <sup>1</sup>UFAL/UFPB; <sup>2</sup>LTF-UFPB; <sup>3</sup>DQ-UFPB; <sup>4</sup>IQ-UFRJ; <sup>5</sup>IQ-UFF

**Introduction:**  $\beta$ -norlapachone is a synthetic naphthoquinone derivative from lapachol, natural naphthoquinone isolated of species from *Tabebuia* spp. (Bignoniaceae), popularly known as "ipês." Recently we demonstrated that these naphthoquinones, showed spasmolytic activity on guinea pig ileum and that  $\beta$ -norlapachone relaxed guinea pig ileum, and its action mechanism seems to involve inhibition of calcium influx through of the L-type voltage-gated calcium channels ( $Ca_v$ ) (CAVALCANTE *et al.*, 2007). It is known that the naphthoquinones induce oxidative stress. Thus, we hypothesized that  $\beta$ -norlapachone might be induce relaxation of the guinea pig ileum not to block the  $Ca_v$  directly, but by increasing the oxidative stress through the formation of free radicals. The aim of this work is to investigate the contribution of free radicals in the spasmolytic response induced by  $\beta$ -norlapachone on guinea pig ileum. **Methods:** guinea pig ileum was suspended in organ bath containing modified Krebs solution (pH 7.4) at 37 °C, gassed with 95 %  $O_2$  and 5 %  $CO_2$  mixture and resting tension of 1 g. Isometric contractions were registered through force transducer coupled to amplifier, which was connected to a microcomputer. **Results:** curiously, the curve of relaxation of  $\beta$ -norlapachone ( $EC_{50} = 1.4 + 0.2 \times 10^{-5}$  M, n = 5) has not changed in the presence of the 60 mM glutathione, an antioxidant agent ( $EC_{50} = 1.4 + 0.1 \times 10^{-5}$  M, n = 5), suggesting that  $\beta$ -norlapachone be causing relaxation of the guinea pig ileum by a mechanism independent of free radicals. To confirm this hypothesis, glutathione was mixed with the oxidant agent ( $\beta$ -norlapachone) before its addition to organ bath. Interestingly, even the glutathione before being mixed with  $\beta$ -norlapachone ( $EC_{50} = 1.4 + 0.6 \times 10^{-5}$  M, n = 5), that also was unable to prevent the relaxing effect produced by this naphthoquinone, confirming that the  $\beta$ -norlapachone is producing spasmolytic effect on the guinea pig ileum by a mechanism that does not involve the participation of free radicals. **Discussion:** thus, in this work shows that the  $\beta$ -norlapachone induces spasmolytic effect on guinea pig ileum and that this mechanism does not involve the participation of free radicals. Apoio Financeiro: LTF, UFPB, CAPES, CNPq and UFAL

## 09.126

Comparative study between trachylobane-360 and its hydroxylated derivative on guinea pig trachea and rat uterus. Martins, I. R. R.<sup>1</sup>; Santos, R. F.<sup>2</sup>; Monteiro, F. S.<sup>2</sup>; Monteiro, F. S.<sup>2</sup>; Correia, A. C. C.<sup>2</sup>; Tavares, J. F.<sup>2</sup>; Silva, M. S.<sup>2</sup>; Silva, B. A. da<sup>2</sup> <sup>1</sup>UFPB - Ciências da Saúde; <sup>2</sup>LTF-UFPB - Ciências Farmacêuticas

**Introduction:** species *Xylopia langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul (Annonaceae) is popularly known in Brazil as "pimenteira da terra" (Correa, *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, p. 315, 1984). The diterpene ent-7a-acetoxytrachyloban-18-oic acid (trachylobane-360) was isolated from hexane phase obtained from crude ethanol extract of *Xylopia langsdorfiana* stem bark. This compound did not show spasmolytic effect both guinea pig trachea and rat uterus (Janebro, SBFTE 2007). From trachylobane-360 was obtained a hydroxylated derivative, which was identified as ent-7a-hidroxitrachyloban-18-oic acid (trachylobane-318), without reports in the literature on biological properties related to it. Thus, we aim to investigate a possible spasmolytic activity on guinea pig trachea and rat uterus for trachyloban-318 and compare to its precursor. **Methods:** The organs (guinea pig trachea and rat uterus) were suspended in organ bath containing adequate solution (pH = 7.4) and gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture. Isometric contractions were recorded through a force transducer connected to an amplifier, which was coupled to a microcomputer. Isotonic contractions were recorded on a smoked drums through levers coupled to kymographs. **Results:** trachylobane-318 (until 10<sup>-4</sup> M) did not present significant tocolytic effect on rat uterus pre-contracted with carbachol or oxytocin (n = 3). However, trachylobane-318 relaxed carbachol-pre-contracted tracheal rings in the presence (EC<sub>50</sub> = 3.3 ± 0.4 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5) or absence (EC<sub>50</sub> = 3.5 ± 0.9 x 10<sup>-5</sup> M, n = 5) of functional epithelium in a concentration-dependent and equipotent manner. (n = 5). **Discussion:** trachylobane-318, as well its precursor, trachyloban-360, did not show tocolytic effect. On the other hand, the results obtained in guinea pig trachea suggest that spasmolytic effect induced by trachylobane-318 is epithelium-independent. Collectively, our results provide functional evidence that the modification made (desacetylation) in the trachylobane-360 for obtaining its hydroxylated derivative, trachylobane-318, was determinant to that spasmolytic effect, and did not affect the rat uterus responsiveness. Apoio Financeiro: CAPES, PIBIC/CNPq, LTF/UFPB

## 09.127

*Maytenus rigida* Mart. shows spasmolytic activity on guinea pig ileum. Carreiro, J. N.; Santos, R. F.; Santos, V. L.; Barbosa Filho, J. M.; Silva Filho, R. N.; Batista, L. M.; Silva, B. A. da <sup>1</sup>UFPB - LTF; <sup>2</sup>UFPB - LTF-DCF; <sup>3</sup>UFPB - DCF/LTF

**Introduction:** genus *Maytenus* (Celastraceae) is chemically characterized by presence of phenolic metabolic such as condensed tannins, flavonoids and triterpenes, which supported use of this genus by the population how anti-inflammatory, analgesic, antidiarrheal (JORGE, J. *Ethnopharmacol.*, v. 94, p. 93, 2004). The *Maytenus rigida* species are popularly known as “bom-nome”, “bom-homem”, “chapéu de couro” and “pau de colher”. The crude ethanolic extract of the stem bark of *Maytenus rigida* Mart (Mr-EtOH) showed anti-inflammatory, antiulcerogenic and antidiarrheal activity in animal models antidiarrheal activity antidiarrheal activity (Santos *et al.*, *Rev. Bras. Farmacog.*, v. 17, p. 336, 2007). Since there is no study relate with spasmolytic action using *M. rigida* Mart., we aim to investigate a possible spasmolytic activity for this species on rat uterus, guinea pig trachea and ileum. **Methods:** the organs (rat uterus, guinea pig trachea and ileum) were suspended in organ bath containing adequate temperature and physiological solution (pH = 7.4), gassed with 95 % O<sub>2</sub> and 5 % CO<sub>2</sub> mixture. Isometric contractions were registered through of tension force transducer coupled to an amplifier, which was connected to a microcomputer and isotonic contractions were recorded on a smoked drums through levers coupled to kymographs. **Results:** Mr-EtOH (243-500 µg/mL) did not antagonize the oxytocin- and carbachol- induced contractions on rat uterus, and did not relax guinea pig trachea pre-contracted by carbachol (CCh). On the other hand, Mr-EtOH (0.1-500 µg/mL) relaxed the guinea pig ileum pre-contracted by 40 mM KCl and 10<sup>-6</sup> M CCh (EC<sub>50</sub> = 59.0 ± 19.3 µg/mL and 11.6 ± 2.5 µg/mL, respectively; n = 5) in a concentration-dependent and significant manner. **Discussion:** among smooth muscles tested, Mr-EtOH was selective to guinea pig ileum. The maintenance of tonic contraction induced by KCl or CCh depends mainly of Ca<sup>2+</sup>-influx through of voltage-gated calcium channels (Ca<sub>v</sub>). As Mr-EtOH relaxed the guinea pig ileum pre-contracted by both KCl and CCh is suggestive of blocked of Ca<sup>2+</sup>-influx trough Ca<sub>v</sub>. Take together, these results associated to antidiarrheal activity observed by Santos *et al.* (*Rev. Bras. Farmacog.*, v. 17, p. 336, 2007) support the use of *Maytenus rigida* in folk medicine.

## 09.128

Trachylobane-318, a hydroxylated derivative of trachylobane-360, SHOWS spasmolytic effect on guinea-pig ileum. Santos, R. F.<sup>1</sup>; Martins, I. R. R.<sup>1</sup>; Janebro, D. I.<sup>1</sup>; Travassos, R. A.<sup>1</sup>; Monteiro, F. S.<sup>1</sup>; Tavares, J. F.<sup>2</sup>; Silva, M. S.<sup>2</sup>; Silva, B. A. da<sup>2</sup><sup>1</sup>UFPB - LTF; <sup>2</sup>UFPB - LTF/DCF

**Introduction:** *Xylopi* *langsdorfiana* A. St.-Hil. & Tul. (Annonaceae) is popularly known as “pimenteira-da-terra” in Brazil (Correa, *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, p. 315, 1984) and has been reported to contain diterpenes with spasmolytic effect (Ribeiro, *Rev. Bras. Farmacog.*, v. 17, p. 197, 2007). The diterpene ent-7a-acetoxytrachyloban-18-oic acid (trachylobane-360), isolated from the stem bark of *X. langsdorfiana*, showed spasmolytic effect on guinea pig ileum (Janebro, SBFTE 2007). From the trachylobane-360 was obtained a hydroxylated derivative, which was identified as ent-7a-hidroxitrachyloban-18-oic acid (trachylobane-318), a new diterpene without reports in the literature about its biological properties. Thus, we decided to investigate a possible spasmolytic activity in guinea pig ileum for trachylobane-318. **Methods:** the guinea pig ileum was suspended in organ bath containing adequate solution (pH = 7.4) at 37 °C and gassed with carbogen mixture. Isometric contractions were registered through of force transducer coupled to an amplifier, which was connected to a microcomputer and isotonic contractions were recorded on a smoked drums through levers coupled to kymographs. **Results:** trachylobane-318 inhibited (n = 5) the contractions induced by carbachol (IC<sub>50</sub> = 2.8 ± 0.4 × 10<sup>-5</sup> M) or histamine (IC<sub>50</sub> = 3.7 ± 0.5 × 10<sup>-5</sup> M), in a concentration-dependent and equipotent manner. Trachylobane-318 antagonized, pD'<sub>2</sub> = 4.76 ± 0.04, n = 4, the histamine induced contractions in a significant and concentration-dependent manner (r<sup>2</sup> = 0.94 ± 0.02). The cumulative concentration-response curves to histamine in the presence of trachylobane-318 was shifted rightward in a non-parallel manner (slope = -6.8 ± 0.09). In addition, trachylobane-318 relaxed the ileum (n = 4) pre-contracted with KCl, carbachol or histamine (EC<sub>50</sub> = 1.5 ± 0.2; 1.2 ± 0.2 and 0.1 ± 0.001 × 10<sup>-5</sup> M, respectively) in a concentration-dependent manner, being more potent against histamine. **Discussion:** trachylobane-318, as well as trachylobane-360, shows spasmolytic effect in guinea pig ileum suggesting that the structural modification made in the trachylobane-360 is not responsible for this effect. However, it is determinant for higher potency against histamine, fact this that was not observed with trachylobane-360. In conclusion, our results provide functional evidence that trachylobane-318 could be inhibiting the Ca<sup>2+</sup>-influx through voltage-gated calcium channels, since this is the common step on pathway that leads to contraction elicited by contractile agents tested.



## 09.129

Antioxidant activity of the aerial parts from *Mimosa paraibana barneby*. Lima, J. T.<sup>1</sup>; Nunes, X. P.<sup>2</sup>; Mesquita, R. F.<sup>2</sup>; Almeida, J. R. G. S.<sup>1</sup>; Neves, L. F.<sup>1</sup>; Ribeiro, L. A. A.<sup>3</sup>; Agra, M. F.<sup>4</sup>; Barbosa Filho, J. M.<sup>5</sup> <sup>1</sup>UNIVASF - Plantas Mediciniais; <sup>2</sup>UNIVASF - Medicina; <sup>3</sup>FSM - Farmácia; <sup>4</sup>UFBP - Ciências Farmacêuticas; <sup>5</sup>UFPB - Tecnologia Farmacêutica

**Introduction:** The interest in discovering new antioxidants compounds from natural sources has been growing in recent years. The Mimosaceae family has about 60 genera, which were distributed in more than 4000 species, occurring in tropical and subtropical regions, especially in arid regions (NEILSON, 1992). *Mimosa paraibana* is popularly known as "jurema" and it is typical species of the Paraíba state. The aim of this work was analyzing the antioxidant activity of hexane, chloroform and ethyl acetate extracts obtained from *M. paraibana*. **Methods:** The aerial parts of *M. paraibana* was collected in April 2005, near the Serra Branca city in the Paraíba state (Brazil). The aerial parts were dried, powdered and subjected to exhaustive maceration with 95% ethanol solution. After solvent evaporation, was obtained the crude ethanol extract. The ethanol extract was submitted to a partition using several solvents with increasing polarity degrees, resulting in the hexane, chloroform and ethyl acetate extracts. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by spectrophotometric test using stable free radical, the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The assay was conducted with the concentrations of 5, 10, 25, 50, 125 and 250 µg/mL. In each 2.5 mL of sample solutions was added 1 mL of DPPH solution, which was allowed 15 minutes in resting for reaction. As a negative control was used 1 mL of DPPH plus 2.5 mL of methanol. The absorbance was read in a spectrophotometer at 517 nm. As gold-standard was used ascorbic acid in the same concentrations of the tested samples. **Results:** The antioxidant power was expressed in terms of EC<sub>50</sub>. The EC<sub>50</sub> (in µg/mL) obtained were 5.21 to extract hexane, 1.01 to chloroform extract and 35.78 to ethyl acetate extract. The EC<sub>50</sub> of ascorbic acid (2.91 µg/mL) was used to compare the antioxidant activity of extracts tested. **Discussion:** These data shown that all of tested extracts have a great antioxidant activity in potential, and is highlighting that the chloroform extract which had a more powerful scavenger activity, when compared to standard. This fact seems to be due to substances present in phenol extract (NUNES *et al.*, 2006) that maybe contribute to the good results obtained. Neilson, I. C. Mimosaceae (Leguminosae - Mimosoideae). Flora Malesiana, Ser. 1, Vol. 11, Part 1. Rijksherbarium, Leiden, 1992. Nunes, *et al.* Anais da 29<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia - SP, maio/2006. Apoio Financeiro: UNIVASF, CNPq, CAPES

### 09.130

Evaluation of (-)-epicatechin from *Mouriri pusa* effect against acute ulcerative colitis in rats. Vasconcelos, P. C. P.<sup>1</sup>; Seito, L.N.<sup>1</sup>; Di Stasi, L. C.<sup>1</sup>; Hiruma-Lima, C. A.<sup>2</sup>; Vilegas, W.<sup>3</sup>; Pellizzon, C. H.<sup>4</sup> <sup>1</sup>IB-UNESP-Botucatu - Farmacologia; <sup>2</sup>IB, UNESP-Botucatu - Fisiologia; <sup>3</sup>IQ-UNESP-Araraquara - Química Orgânica; <sup>4</sup>IB-UNESP-Botucatu - Morfologia

**Introduction:** Current treatments of ulcerative have limited efficacy and lead to side effects. *Mouriri pusa* Gardn. (Melastomataceae) is used in folk medicine to treat gastrointestinal disorders. Previous studies on this plant showed cytoprotective and cicatrizing effect. (-)-Epicatechin (E), one of its flavonoids, was tested in the present work for its antioxidant effect described in the literature. The present work evaluated EC effect against ulcerative colitis induced by local injection of TNBS in male Wistar rats. **Methods:** Four doses of E were tested (E5, E10, E25 and E50 mg/kg) together with vehicle control (C), the reference drug Sufasalazine (R) and a group without colitis induction, sham (S) (n=7;7;6;7;8;7;5 respectively). The treatments were given orally once a day for 2 days before and then once 2 hours after and 1 day after colitis induction. 1 day later, the rats were killed. The colons were removed, weighed and measured. Then, they were opened longitudinally for macroscopic score assessment and samples were taken for routine histological preparation for microscopic score; for Western blot analysis of HSP-70 and for colon glutathione biochemical quantification and **Results and Discussion:** During the 5 days, there was no significant difference among groups E, R and C for body weight, but on days 4 and 5 (days after colitis induction), S group presented higher weights than the others; also, there was no significant difference among groups E, R and C for colon weight and length, but in S group, colons were significantly lighter and longer than in the other groups, indicating that colitis induction reduced size and augmented weight of colons similarly in all other groups (ANOVA - Tukey, \*p<0.05). Macroscopic scores were: C=8.62 ±0.46; E5=7.57 ±0.20; E10=7.00 ±0.49\*; E25=7.50 ±0.22; E50=6.86 ±0.26\*; R=7.71 ±0.42; S=0; microscopic scores were: C=18.62 ±0.56; E5=17.86 ±0.59; E10=15.43 ±0.53\*; E25=17.67 ±0.99; E50=16.57 ±0.75; R=16.71 ±0.81; S=0 (mean ±SEM, Kruskal Wallis - Dunn, \*p<0.05). HSP-70 is a protein activated under stress that protects cellular homeostatic processes from environmental and physiologic injuries. There was no significant difference among the groups, except that in S group HSP-70 expression was not observed. Glutathione quantification was (µg/ml): C=954.73 ±69.74; E5=1035.49 ±72.94; E10=1176.55 ±46.34\*; E25= 1130.95 ±42.46; E50=1127.25 ±35.36; R=1104.60 ±22.33; S=1555.75 ±107.83\* (mean ±SEM, ANOVA - Dunnett, \*p<0.05), indicating that E10 maintained GSH in the tissue, acting as antioxidant. By these findings, it is possible to conclude that treatment with (-)-epicatechin, mainly at the dose of 10 mg/kg, successfully reduced acute colitis severity by antioxidant action. Apoio Financeiro: Fapesp

### 09.131

Apoptosis induced by an acidic deoxyribonuclease (DNase II) from *Bothrops alternatus* snake venom in MDCK cells. Nascimento, J. M.<sup>1</sup>; Collares-Buzato, C. B.<sup>2</sup>; Hyslop, S.<sup>3</sup> <sup>1</sup>UNICAMP - Bioquímica; <sup>2</sup>UNICAMP - Histologia e Embriologia; <sup>3</sup>UNICAMP - Farmacologia

**Introduction:** Snake venoms contain a variety of enzymes that degrade nucleic acids and their constituents. Acidic deoxyribonucleases (DNase II) have been implicated in DNA fragmentation during apoptosis in mammals. In this work, we used MDCK cells to investigate the apoptotic activity of DNase II purified from *Bothrops alternatus* snake venom. **Methods:** DNase II was purified by a combination of gel filtration and affinity chromatographies. Cultured MDCK cells were incubated with *B. alternatus* DNase ( $\geq 100$  U/ml) and cytotoxicity was assessed by neutral red uptake and lactate dehydrogenase (LDH) release. Cellular morphology was assessed by the Feulgen reaction, toluidine blue staining and phase contrast microscopy. DNA fragmentation was assessed by agarose gel electrophoresis, and cell death was quantified by flow cytometry using annexin V-FITC and propidium iodide. Caspase 3, 8 and 9 activities were assayed spectrophotometrically, and caspase 3, 8 and 9, Bcl-2 and PARP protein expression was analyzed by western blotting. **Results:** DNase II was cytotoxic to MDCK cells at concentrations of 400-10,000 U/ml (20-500  $\mu$ g/ml), as shown by a decrease in neutral red uptake (~20%, ~40% and ~60% reduction after incubation with 4,000 U/ml for 24, 48 and 72 h, respectively) and a corresponding increase in LDH release (~75% release after incubation with 4,000 U/ml for 72 h). This cytotoxicity was concentration- and time-dependent, and resulted in morphological alterations that included cell shrinkage, swelling and detachment from the monolayer, nuclear condensation and/or fragmentation and cytoplasmic vacuolization. There was also DNA fragmentation. Flow cytometry showed an increase in the number of apoptotic cells and (to a lesser extent) necrotic cells. Caspases 3, 8 and 9 were activated (caspase 3 appeared to be activated before the others) and poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) showed concentration- and time-dependent cleavage during incubation with DNase II. There was also a decrease in Bcl-2 expression. **Conclusion:** These results show that DNase II from *B. alternatus* venom degrades DNA and causes apoptosis by altering the expression and activity of proteins involved in this phenomenon. Financial support: CNPq, FAPESP

### 09.132

Atividade estrogênica e anti-estrogênica do extrato do caneleiro (*Cenostigma macrophyllum* Tul var. *acuminata* Teles Freire) sobre o útero de ratas castradas. Oliveira, J. M. G.<sup>1</sup>; Santos, D. B.<sup>2</sup>; Bueno, M. N.<sup>1</sup>; Furtado, J. A. L.<sup>1</sup>; Costa, A. P. R.<sup>3</sup> <sup>1</sup>UFPI-CCA; <sup>2</sup>UFPI-NPPM; <sup>3</sup>UFPI - Morfofisiologia

**Introdução:** Diversas plantas vêm sendo amplamente estudadas e usadas por exibirem atividade semelhante ao estrógeno. Recentemente descobriu-se que as plantas podem exibir efeitos não só estrogênicos, mas também anti-estrogênicos. A família Leguminosae Adms, na qual se insere a *Cenostigma macrophyllum* Tul popularmente conhecida como caneleiro é constituída por espécies ricas em metabólicos pertencentes à classe dos flavonóides. Estudos têm demonstrado os efeitos benéficos dos fitoestrógenos na prevenção de várias doenças crônicas como câncer de cólon, mama, próstata, doenças cardiovasculares, e, principalmente, os efeitos benéficos em pacientes na pós-menopausa. O objetivo do trabalho foi investigar uma possível atividade estrogênica ou anti-estrogênica do caneleiro. **Métodos:** o extrato foi obtido das folhas do caneleiro, secas em estufa, concentrados em rotavapor e conservados sob refrigeração até sua utilização. Foram utilizadas ratas Wistar adultas (180-250 g), criadas e mantidas no Biotério do Centro de Ciências Agrárias-UFPI, em regime de 12 horas no ciclo claro/escuro, com livre acesso a água e ração. As ratas foram castradas sob anestesia inalatória com halotano. Após 20 dias da castração foram distribuídas, ao acaso, em quatro grupos (n=8) e receberam os seguintes tratamentos: grupo-I salina 1ml/100 g de peso corporal (pc) via oral (vo) + óleo de milho (0,1ml/100 g pc) via intramuscular (im), grupo-II salina (1ml/100 g pc) vo + estradiol (1 mg/100 g pc) im, grupo-III, extrato etanólico na dose de (50 mg/100 g pc) vo + óleo de milho(0,1ml/100 g pc) im e o grupo-IV extrato (50 mg/100 g pc) vo + estradiol (1 mg/100 g) im. O tratamento foi realizado durante 4 dias e no 5º dia, as ratas de todos os grupos foram sacrificadas por excesso de inalação de halotano e logo em seguida fez-se a remoção, limpeza e pesagem dos úteros. **Resultados:** Os resultados de peso uterino em g/100 g de pc (expressos em média ± desvio padrão), nos grupos experimentais foram: grupo-I 7,1±1,79; grupo II 27,17±5,93; grupo III 8,05±2,21 e grupo IV 24,19 ±4,54. Os resultados foram submetidos ao teste de Kruskal Wallis. **Discussão:** A administração de estrogênio possui efeito uterotrófico em ratas fêmeas imaturas ou ovariectomizadas, aumentando a quantidade de líquido no interior do útero. Os resultados dos experimentos demonstram que o peso uterino dos grupos tratados com extrato do caneleiro não apresentou efeito estrogênico ou antiestrogênico, pois não houve aumento significativo no peso do útero nos grupos tratados com salina e extrato, bem como nos grupos tratados com estradiol e estradiol juntamente com extrato. Apoio Financeiro: PIBIC/CNPq

### 09.133

Efeito hipotensor do extrato hidroalcoólico e da rutina obtidos da *Polygala paniculata* L. em ratos normotensos. Soares, K. C. N.<sup>1</sup>; Lapa, F. R.<sup>1</sup>; Rattmann, Y. D.<sup>1</sup>; Crestani, S.<sup>1</sup>; Marques, M. C. A.<sup>1</sup>; Santos, A. R. S.<sup>2</sup>; Pizzolatti, M. G.<sup>3</sup>; Kassuya, C. A. L.<sup>4</sup>; Rieck, L.<sup>1</sup> <sup>1</sup>UFPR - Farmacologia; <sup>2</sup>UFSC - Ciências Fisiológicas; <sup>3</sup>UFSC - Química; <sup>4</sup>UFSC - Farmacologia

**Introdução:** *Polygala paniculata* L. é uma planta que cresce na costa Atlântica brasileira e também no litoral de Santa Catarina. É utilizado pela população para o tratamento de doenças respiratórias, problema renal, cardiovasculares, dor de estômago e diarreia. Entretanto, as indicações populares para tratar problemas renais e cardiovasculares não foram confirmadas cientificamente. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar o efeito hipotensor do extrato bruto hidroalcoólico e da rutina obtida das folhas da planta *Polygala paniculata* L. (EHPP). **Métodos:** Ratos Wistar normotensos (n = 4 a 6) receberam por via oral o EHPP (30-300 mg/kg, 1 hora antes) ou rutina por via endovenosa (1, 3 e 10 mg/kg) após o procedimento cirúrgico. Para a medida da pressão arterial, os animais foram anestesiados com cetamina (100 mg/kg) e xilazina (20 mg/kg) pela via intramuscular e a veia femoral e artéria carótida foram canuladas. Através da veia femoral foram administrados inibidores e antagonistas e através da artéria carótida foi mensurada continuamente a pressão arterial. Os resultados foram expressos como a média  $\pm$  o EPM. **Resultados:** A administração via oral de EHPP (30, 100 e 300 mg/kg) apresentou a redução da pressão arterial média (PAM) em  $17,4 \pm 1,98$ ;  $23,5 \pm 2,7$ , e  $27,1 \pm 2,8$  mmHg, respectivamente. A hipotensão causada pelo EHPP (100 mg/kg, v.o.) foi reduzida quando os animais foram infundidos com L-NAME (um inibidor da sintase do óxido nítrico, 7 mg/kg/min) ou com azul de metileno (um inibidor da ciclase de guanilil, 150 nmol/kg/min). Porém, o tratamento com atropina (5 mg/kg, s.c.) e com tetraetilamônio (TEA - 360  $\mu$ mol/kg, i.v.), não interferiu no efeito hipotensor do EHPP 100 mg/kg (v.o.). Além disso, a administração da rutina, o composto majoritário do EHPP, promoveu redução da PAM em  $29 \pm 2,8$  mmHg para a dose de 30 mg/kg (i.v.). **Discussão e conclusões:** Os resultados do presente estudo demonstram que o EHPP e também o composto isolado rutina apresentaram efeito hipotensor quando administrado em ratos normotensos anestesiados. Os resultados sugerem ainda o possível envolvimento da via óxido nítrico- ciclase de guanilil nas ações hipotensoras induzidas pelo EHPP e rutina. Estão sendo realizados estudos complementares com o extrato e compostos isolados para esclarecer outros mecanismos de ação envolvidos neste efeito. Apoio Financeiro: Faculdade Guairacá - PR

**09.134**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

**09.135**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**

### 09.136

Investigação da toxicidade do extrato etanólico bruto obtido das partes aéreas de *Sidastrum paniculatum* Fryxell. Gomes, S. M.; Leite, J. A.; Lima, I. O.; Xavier, A. L.; João Carlos<sup>1</sup>; Diniz, M. F. F. M.<sup>1</sup>; Agra, M. F.<sup>1</sup>; Sousa, M. F. V.<sup>1</sup>; Batista, L. M.<sup>1</sup> UFPB- LTF

**Introdução:** *Sidastrum paniculatum* Fryxell (Malvaceae) é conhecida popularmente como malva-roxa ou malvaisco, sendo esse gênero encontrado em toda região Nordeste. A escolha de *S. paniculatum* para estudo foi baseada no critério quimiotaxonômico, que aponta esta espécie rica em flavonóides, substâncias que possuem diversas atividades farmacológicas. Na ausência de estudos pré-clínicos, este trabalho objetivou investigar a toxicidade do extrato etanólico bruto (EEtOH) obtido das partes aéreas de *S. paniculatum*. **Métodos:** Através do bioensaio com o microcrustáceo *Artemia salina* Leach determinou-se a concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) (Parra, *Phytomed*, 8, 395, 2001), em seguida, realizou-se o ensaio toxicológico agudo pré-clínico (14 dias) em camundongos suíços machos/fêmeas (n=12) após dose 2000 mg/kg do EEtOH (v.o.), sendo determinados: alterações comportamentais frente ao sistema nervoso central e autônomo (Almeida, *Rev.Bras.Farm.*, 80, 72, 1999), dose letal 50% (DL<sub>50</sub>), massa corporal, peso dos órgãos, consumos de água e ração (Souza Brito, Ed. Unicamp, 1994). A análise estatística utilizada foi método de Probitos para a determinação da CL<sub>50</sub> e os resultados da toxicidade aguda foram expressos como média±e.p.m. após teste “t” de Student (p<0,05). **Resultados:** O valor médio da CL<sub>50</sub> do EEtOH de *S. paniculatum* foi de 866,2 µg/mL; no ensaio toxicológico, o EEtOH não provocou alteração comportamental nos camundongos, no entanto, causou a morte de um camundongo macho; os dados verificados para a massa corporal(g), consumo de água (mL) e ração (g) foram, respectivamente: machos (1.3±0.14; 0.43±0.57\*\*; 5.95±0.33) e fêmeas (1.6±0.36; 6,78±0,30; 7.64±0.55) quando comparados aos respectivos controles: machos(1.5±0.83; 13.12±0.56; 5.98± 0.71) e fêmeas (1.4±0.30; 6,74±0.22; 6.90±0.33), não alterou os pesos dos órgãos coração, fígado e rins: machos (0.15±0.007; 1.86±0.14; 0.50±0.02) e fêmeas (0.14±0.002; 1.83± 0.07; 0.39± 0.02) quando comparados aos respectivos controles: machos (0.17±0.01; 2.25±0.01; 0.52±0.01) e fêmeas (0.15±0.01; 1.94±0.14; 0.41±0.01). **Discussão:** No bioensaio com *A. salina*, o EEtOH de *S. paniculatum* mostrou-se bioativo, uma vez que a CL<sub>50</sub> foi inferior a 1000 µg/mL. Nas condições avaliadas, a morte de um animal mostrou-se como um dado insuficiente para a determinação da DL<sub>50</sub>; no entanto, a diminuição do consumo de água dos camundongos machos indica uma possível ação tóxica. Deste modo, sugere-se que o EEtOH de *S. paniculatum* possui constituintes bioativos e estes apresentaram baixa toxicidade na dose máxima administrada por via oral. Apoio Financeiro: MEC-SESu; LTF



### 09.137

Atividade cardiotônica de uma fração isolada das folhas de *Physalis angulata*. Gomes, V. M.<sup>1</sup>; Oliveira, H. C. S.<sup>2</sup>; Pessoa, O. D. L.<sup>3</sup>; Fonteles, M. C.<sup>4</sup>; Santos, C. F.<sup>5</sup>; Nascimento, N. R. F.<sup>6</sup>  
<sup>1</sup>UECE - Fisiologia; <sup>2</sup>UECE - Ciências Fisiológicas; <sup>3</sup>UFC - Química orgânica e Inorgânica; <sup>4</sup>Universidade Presbiteriana Mackenzie - Fisiologia e Farmacologia; <sup>5</sup>UECE - Medicina; <sup>6</sup>UECE - Medicina Veterinária

Uma fração obtida por cromatografia, denominada PA1, isolada das folhas *Physalis angulata* mostrou em experimentos iniciais de triagem farmacológica um efeito inotrópico positivo. O presente trabalho avaliou os efeitos da fração PA1 nas contrações espontâneas do átrio direito ou em tiras de ventrículo estimuladas eletricamente em tecidos isolados de cobaio. Cobaios machos foram anestesiados com Uretana (800 mg/kg) e Pentobarbital (40 mg/kg), seguindo-se uma injeção intravenosa de heparina (100 UI/Kg). Após sacrifício por secção da aorta abdominal foram retirados átrio direito e tiras de ventrículo, imersos em solução nutritiva de Krebs-Henseleit e Tyrode modificado, respectivamente, a 37°C e aerados com mistura carbogênica (5% de CO<sub>2</sub> e 95% de O<sub>2</sub>). Os tecidos foram montados em banhos de órgãos para registro isométrico acoplado a polígrafo de quatro canais. A frequência e amplitude das contrações espontâneas de átrio direito e a amplitude, tempo para atingir resposta máxima e tempo para alcançar 80% do relaxamento no ventrículo isolado foram avaliados. Curvas dose-resposta da fração PA1 (0,1 a 300 µg/ml) foram realizadas nas preparações de átrio e tiras de ventrículo. As respostas foram medidas 10 minutos após adição de cada concentração e comparadas com aquelas obtidas por adição isovolumétrica de veículo (DMSO 1% em salina) ou da digoxina (0,1 a 3 µg/ml). A fração PA1 induziu aumento concentração-dependente no inotropismo em átrio direito (303,7± 14,6%; CE<sub>50</sub> 683 [262,1-1780 µg/ml];n=4) sem alterar significativamente a frequência das contrações espontâneas deste tecido (controle-169,9±12,3 bpm vs. PA1 300 µg/ml- 138,9±6,4 bpm;n=4). Na tira de ventrículo isolado a fração PA1 diminuiu o tempo para alcance da contração máxima em 16,3% e causou um efeito inotrópico positivo de 134,3±3,8% (CE<sub>50</sub>=350,6 [67,1-1831 µg/ml; n=4). Quando comparado com a digoxina este composto apresentou atividade inotrópica positiva semelhante em átrio direito (562,5±50,6%; CE<sub>50</sub> = 1,8[0,6-5,0 µg/ml) tendo a digoxina induzido um pequeno incremento da frequência (39,6±3,1%). No entanto, a Fração PA1, ao contrário da digoxina, não apresentou efeito tonotrópico positivo e nem induziu arritmias mantida nas doses maiores. Dados iniciais mostraram que esta fração é composta por duas substâncias que foram isoladas e denominadas F9 e F13. A fração 13 é destituída de atividade e a fração 9 é responsável pela atividade cardiotônica. A fração PA1 tem efeito cardiotônico semelhante à digoxina com menor toxicidade evidente e pode tornar-se uma fonte na busca de moléculas ativas para melhor caracterização farmacológica posterior. Apoio Financeiro: FUNCAP

**09.138**  
**PRÊMIO INOVAÇÃO**