



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

**FARMACOBOTÂNICA, ATIVIDADE
ANTIINFLAMATÓRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS
DE *NOPALEA COCHENILLIFERA* (L.) SALM-DICK
(CACTACEAE)**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Raquel Medina Martins Necchi

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

FARMACOBOTÂNICA, ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *NOPALEA*
COCHENILLIFERA (L.) SALM-DICK (CACTACEAE)

por

Raquel Medina Martins Necchi

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração em
Controle e Avaliação de Insumos e Produtos Farmacêuticos, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito
parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

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

Santa Maria, RS, Brasil
2011

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

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

**FARMACOBOTÂNICA, ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *NOPALEA COCHENILLIFERA* (L.)
SALM-DICK (CACTACEAE)**

Elaborada por
Raquel Medina Martins Necchi

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Ciências Farmacêuticas

COMISSÃO EXAMINADORA:

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

Nilsa Sumie Yamashita Wadt, Dr^a. (UNINOVE)

Rafael Noal Moresco, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 14 de março de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus.

A minha Vó Aida, pelos exemplos de força, coragem e fé.

Aos meus pais, Luiz Carlos e Nóris pelo carinho, exemplos de vida, moral e ética.

Ao meu esposo Eduardo, pelo amor, companheirismo e grande incentivo.

As minhas irmãs, Beatriz e Laura, pelo apoio e amizade sincera.

A minha orientadora e amiga, Melânia Palermo Manfron, por acolher-me no seu grupo de pesquisa, pelo incentivo e ensinamentos.

Aos colegas e amigos de laboratório, Tiago Maki, Camila Zanotto, Vilmar, Camila Bugnotto, Rosana, Aline, Júnior, Alexandre, Luísa, Daiane, Vera e Gilberto pelos momentos e conhecimentos compartilhados.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida durante a realização deste trabalho.

*“Dar o exemplo não é a melhor maneira
de influenciar os outros. É a única”
“Albert Schweitzer”*

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Santa Maria

FARMACOBOTÂNICA, ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA E PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE *NOPALEA COCHENILLIFERA* (L.) SALM-DICK (CACTACEAE)

AUTORA: Raquel Medina Martins Necchi
ORIENTADORA: Melânia Palermo Manfron
Data e Local da Defesa: Santa Maria, 14 de março de 2011

A família Cactaceae compreende aproximadamente 1900 espécies distribuídas em 125 gêneros. *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck ocorre do México ao Panamá e encontra-se aclimatada em diversos países. É uma planta arbustiva que atinge 3 a 4 m de altura, possui tronco cilíndrico e com artículos denominados cladódios que são achatados e carnosos. Esta espécie é conhecida por denominações como palma-doce, palma-miúda, nopal e nopalito. É utilizada na medicina tradicional como antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana e diurética. Nos cladódios de *N. cochenillifera* estão presentes, flavonóides, saponinas, taninos e antraquinonas, sendo destacada a ocorrência de β -sitosterol. Estudo farmacobotânico, demonstra que *N. cochenillifera* apresenta filocladódio com aréolas composta por três espinhos retos e hialinos. A epiderme unisseriada possui estômatos paralelocítico e células mucilaginosas, seguido por um colênquima anelar e parênquima paliçádico, em média, com oito camadas de células. A região vascular é constituída de feixes isolados do tipo colateral aberto e, o cilindro central, é composto por uma medula parenquimática. As estruturas de mucilagem e as drusas de oxalato de cálcio ocorrem tanto na região cortical como no cilindro central e estão em maior número próximo aos feixes vasculares, sendo que as drusas também ocorrem na primeira camada do colênquima. Estas características morfoanatômicas, quando tomadas em conjunto, são consistentes no controle botânico de qualidade desta espécie vegetal. A avaliação da atividade antiinflamatória de *N. cochenillifera* em modelo de indução de tecido granulomatoso demonstra que os animais tratados com extrato etanólico apresentam 53,5% de inibição da formação de tecido granulomatoso enquanto que os tratados com nimesulida apresentam 58,5%, confirmando significativa atividade antiinflamatória. Com os mesmos animais foi realizada a dosagem sérica de AST, ALT, albumina, creatinina e uréia, onde demonstraram ausência de toxicidade renal e sugerem toxicidade hepática.

Palavras chave: *Nopalea cochenillifera*, Farmacobotânica, atividade antiinflamatória, Cactaceae, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade.

ABSTRACT

Mastership Dissertation
Post- Graduation Program in Pharmaceutical Sciences
Federal University of Santa Maria

PHARMACOBOTANICAL, ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *NOPALEA COCHENILLIFERA* (L.) SALM-DICK (CACTACEAE)

AUTHOR: Raquel Medina Martins Necchi

ADVISER: Melânia Palermo Manfron

Date and Location of Defense: Santa Maria, march 14th, 2011

The family Cactaceae comprises about 1900 species in 125 genera. *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck occurs from Mexico to Panama and has been adapted in several countries. It is a shrubby plant that reaches 3-4 m tall, has cylindrical trunk and cladodes that are flat and fleshy. This species is known by names such as palma doce, palma-muida, nopal and nopalitos. It is used in traditional medicine as anti-inflammatory, analgesic, antimicrobial and diuretic. The cladodes of *N. cochenillifera* are present flavonoids, saponins, tannins and anthraquinones, and highlighted the occurrence of β -sitosterol. Pharmacobotanical study shows that *N. cochenillifera* presents phylloclades with areolae composed of three straight and hyaline spines. The uniseriate epidermis has parastomatocytic stomata and mucilage cells, followed by an annular collenchyma and parenchyma palisade, on average, with eight layers of cells. The vascular region consists of isolated bundles of the open colateral type, and the central cylinder, consists of a parenchyma medulla. The structures of mucilage and calcium oxalate druzes occur both in the cortical region as in the central cylinder and are more numerous near the vascular bundles, and the druze also occur in the first layer of collenchyma. These morphoanatomical characteristics, when taken together, are consistent in botanical modelo of control of quality of this plant species. The evaluation of anti-inflammatory activity of *N. cochenillifera* in induction of granulomatous tissue shows that animals treated with ethanol extract shows 53.5% inhibition of the formation of granulomatous tissue, while those treated with nimesulide has 58.5%, confirming significant antiinflammatory activity. With the same animals was performed the serum AST, ALT, albumin, creatinine and urea, which showed a lack of renal toxicity and suggest liver toxicity.

Keywords: *Nopalea cochenillifera*, Pharmacobotanical, Antiinflammatory activity, Cactaceae, Hepatotoxicity, Nephrotoxicity.

LISTA DE FIGURAS

2 REVISÃO DA LITERATURA

FIGURA 1- <i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick.....	14
FIGURA 2- Cladódio de <i>N. cochenillifera</i> evidenciando espinhos e aréola.....	17
FIGURA 3- Secção transversal do cladódio de <i>N. cochenillifera</i> evidenciando epiderme e colênquima.....	18
FIGURA 4- Análise histoquímica dos cladódios de <i>N. cochenillifera</i> evidenciando células mucilagem e região da hipoderme com flavonóides.....	19
FIGURA 5- Esquema mostrando os mediadores derivados do ácido araquidônico e os locais de ação dos fármacos.....	22

3. PUBLICAÇÕES

3.1 Artigo I

FIGURE 1- General view of <i>N. cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick.....	30
FIGURE 2- General view of a phylloclade of <i>N. cochenillifera</i> (L.) Salm- Dick.....	31
FIGURE 3- Paradermal section in frontal view of the cladode of <i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick.....	32
FIGURE 4- Transversal section of the cladode of <i>N. cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick showing the cortical region.....	32
FIGURE 5- Transversal section of the cladode of <i>N. cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick in different histochemical tests.....	33

3.2 Artigo II

FIGURE 1- Serum albumin, creatinine, urea, AST and ALT (mean±SEM) using Cobas Mira apparatus (Roche) using conventional Kits BIOCLIN®.....	44
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AINES - Antiinflamatório não esteroidal

ALT - Alanina aminotransferase

AST - Aspartato aminotransaminase

CAM – Metabolismo ácido das crassuláceas

CO₂- dióxido de carbono

COX- Cicloxigenase

H₂O- água

H₂O₂- peróxido de hidrogênio

HOCl- ácido hipocloroso

HETE- ácido hidroxieicosatetraenóico

HPETE- ácido hidroperoxieicosatetraenóico

IL- Interleucina

LT- leucotrienos

Na⁺- sódio

NO- Óxido nítrico

NH₂-CO-NH₂- uréia

NSAIDs- Antiinflamatórios não esteroidais

O₂⁻ - ânion superóxico

O₂- oxigênio singleto

PGE- Prostaglandina

PGI₂-prostaciclina

TNF- Fator de necrose tumoral

TX- tromboxano

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1 Considerações botânicas.....	13
2.2 Distribuição geográfica.....	13
2.3 <i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dick.....	14
2.4 Usos populares e atividades biológicas.....	15
2.5 Aspectos morfoanatômicos.....	16
2.6 Histoquímica.....	18
2.7 Metabólitos secundários e aspectos farmacológicos.....	19
2.8 Processo inflamatório.....	21
2.8.1 Inflamação granulomatosa.....	22
2.9 Antiinflamatórios não esteroidais.....	23
2.10 Ação antiinflamatória em plantas.....	24
2.11 Parâmetros bioquímicos para a toxicidade hepática.....	26
2.12 Parâmetros bioquímicos para a toxicidade renal.....	27
3 PUBLICAÇÕES	29
3.1 Artigo I- Morphology and Histochemistry of cladode of <i>Nopalea cochenillifera</i>	30
3.2 Artigo II - Antiinflammatory activity and biochemical parameters of the ethanol extract of <i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Salm-Dyck (Cactaceae).....	36
4 DISCUSSÃO GERAL	45
5. CONCLUSÕES	49
6. REFÊRENCIAS	50

1. INTRODUÇÃO

A importância das plantas está fundamentada no fato de que 80% da população mundial faz uso das mesmas em preparações obtidas a partir destas na atenção primária à saúde. Os países em desenvolvimento possuem 67% das espécies vegetais e o Brasil possui grande potencial nos estudos e descobertas de plantas com atividades medicinais, pois detém a maior diversidade vegetal do mundo (BRASIL, 2006).

As plantas medicinais atuam como fontes de agentes terapêuticos, modelos para novos medicamentos sintéticos ou ainda como material de partida para a produção semi-sintética de moléculas de alta complexidade (BRUSCHI et al., 2000).

Apesar da maioria dos medicamentos serem de origem sintética, os fármacos provenientes de plantas superiores ocupam um lugar importante na medicina moderna (GRAGG et al., 1997). Os produtos encontrados na natureza revelam uma gama quase que inacreditável de diversidade em termos de estrutura, propriedades físico-químicas e biológicas (WALL E WANI, 1996). Os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SOEJARTO, 1996).

Vários medicamentos industrializados são desenvolvidos a partir das plantas medicinais (CORRÊA, 1984). Atualmente são utilizados mais de 120 fármacos obtidos por extração direta do vegetal, sendo em sua maioria antiinflamatórios, analgésicos, vitaminas, hormônios e substâncias ativas no Sistema Nervoso Central (KOROLKOVAS E BURCHKHALTER, 1982; SILVA et al., 2000).

Os antiinflamatórios são os melhores exemplos da grande relação entre processos primitivos de seleção de plantas medicinais, a farmacologia e a química moderna (SILVA et al., 2000).

Das várias aplicações terapêuticas dos vegetais, existe a necessidade de pesquisas e estudos para comprovar as atividades, principalmente quanto à avaliação de toxicidade através de ensaios biológicos (SILVA, 1978; SEDGWICK E WILLOUGHBY, 1985). O modelo de granuloma em ratos é utilizado para avaliação da reação inflamatória crônica (SPECTOR, 1969). Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) e também corticóides interferem no processo de formação do granuloma suprimindo a fase inicial de infiltração de neutrófilos (BAILEY, 1982).

Os AINES possuem vários efeitos colaterais, entre os principais, intolerâncias gastrointestinais, nefrotoxicidade e complicações hepáticas (ROCHA, 2001; ULINSKI et al., 2004). Os efeitos tóxicos de substâncias atingem todos os sistemas e órgãos, sendo o fígado o mais vulnerável pelo seu determinismo funcional, que condiciona maior concentração celular dos compostos a serem metabolizados (MENDES, 1988). As doenças hepáticas são um problema de saúde pública mundial, pois a evolução das mesmas inicia-se com a hepatite, esteatose, fibrose, cirrose até o carcinoma hepatocelular (LOGUERCIO E FREDERICO, 2003; VITAGLIONE et al., 2004).

A dosagem sérica de marcadores bioquímicos específicos permite a avaliação da toxicidade hepática e renal. Os níveis séricos de aminotransferases são indicadores confiáveis de alteração funcional ou estrutural da célula hepática e a relação aspartato aminotransaminase: alanina aminotransferase (AST/ALT) e albuminemia são úteis no diagnóstico de hepatopatias (BITTENCOURT, 1985; ANDRIOLO, 1989).

As determinações dos níveis séricos de uréia e creatinina são testes de triagem utilizados na avaliação da função renal (ETTINGER E FELDMAN, 1997; MITCH, 2001; GUYTON E HALL, 2002). A elevação nos níveis plasmáticos de uréia e creatinina fornecem indícios de sobrecarga renal, insuficiência renal aguda ou aumento no catabolismo protéico (VIJAYALAKSHMI et. al., 2000; ADEBAYO et. al., 2003). Porém, a uréia não é tão específica como a creatinina, e isoladamente, não é determinante para a avaliação da função renal (GUYTON E HALL, 2002).

A seleção de uma espécie vegetal para a pesquisa pode ser baseada nas alegações de um efeito terapêutico em humanos, constituindo um valioso atalho para a descoberta de fármacos. O seu uso tradicional pode ser uma pré-triagem quanto à utilidade terapêutica (ELISABETSKY, 2006). Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal encontram-se as plantas do gênero *Nopalea*, que apresentam diversos usos na medicina popular como antiinflamatória, analgésica, antiimicrobiana, hipoglicemiante e diurético (CETTO E HEINRICH, 2005; GOMEZ-FLORES et al., 2006; LANS, 2006).

Para avaliar os usos populares de *Nopalea cochenillifera* e colaborar no controle botânico de qualidade de novos fitomedicamentos, este trabalho tem como objetivo realizar a análise morfoanatómica e histoquímica dos cladódios desta espécie, assim como submeter o extrato etanólico ao ensaio de atividade antiinflamatória juntamente com a análise bioquímica de toxicidade renal e hepática através da dosagem sérica de marcadores bioquímicos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações botânicas

A família Cactaceae consta de cerca de 84 gêneros e 2000 espécies. No Brasil, estão relacionados em torno de 32 gêneros, com cerca de 160 espécies distribuídas em todas as regiões. São plantas xerófitas, cuja evolução está baseada no princípio de redução das partes vegetativas. São plantas perenes, suculentas, de hábito variável, geralmente espinhosas. O caule é dividido em artículos, que constituem os cladódios. Estes podem ser planos, cilíndricos, colunares ou globosos. Os espinhos são modificações foliares, muito variáveis na forma, cor, dimensões e disposição, reunidos em um ponto saliente ou deprimido, que constitui a aréola. As aréolas são órgãos peculiares e complexos, de onde se originam ramos, folhas, flores, espinhos, gloquídias, pêlos e glândulas (BARROSO et al., 1978).

A família está dividida em 3 tribos, que subordinam um número relativo de gêneros: Tribo *Pereskieae*, *Opuntieae*, *Cereae*, sendo que *Nopalea cochenillifera* pertence à tribo *Opuntieae* (BARROSO et al., 1978).

2.2 Distribuição geográfica

As Cactaceae estão distribuídas desde a Patagônia na Argentina até o Canadá em vários habitats, incluindo desertos nus, quentes, extensões litorâneas arenosas, florestas decíduas, e até mesmo em florestas tropicais (BARTHLOTT E HUNT, 1993).

Os centros de diversidade da família compreendem regiões áridas das América do Sul e do Norte notavelmente os Estados Unidos, o sudoeste do México, Brasil Oriental, e os declives orientais e ocidentais dos Andes sul americano. Apenas uma única espécie epifítica *Rhipsalis baccifera*, tem uma gama de distribuição que naturalmente estende para a África do Sul, Madagáscar e Sri Lanka (BARTHLOTT, 1983).

No Brasil, há dois grupos de Cactaceae distintos, um da região Nordeste e outro das regiões Sul e Sudeste, sendo a Bahia o Centro de dispersão. As espécies nordestinas têm

afinidade com as norte-americanas, enquanto as do Sul e Sudeste se assemelham mais as sul-americanas (BARROSO et al., 2002).

2.3 *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck

Nopalea cochenillifera (Figura 1) ocorre do México ao Panamá e encontra-se aclimatada em diversos países (HUNT E TAYLOR 1990; BARBOSA et al., 1996). Esta cactácea é uma planta arbustiva que atinge 3 a 4 m de altura, possui tronco cilíndrico e com artículos denominados cladódios que são achatados e carnosos, assumindo uma disposição que possibilita a projeção de sombra uns aos outros. Seu mecanismo de sombreamento é relevante, uma vez que ocorrem em lugares abertos, de sol pleno e com temperaturas elevadas. O tipo de caule caracteriza-se por realizar o processo de fotossíntese tipo Metabolismo do Ácido das Crassuláceas (CAM) uma vez que as folhas estão reduzidas a espinhos pela xeromorfia (SOUZA E LORENZI, 2005).

É encontrada como planta isolada ou em grupos, formando grandes cultivares. Multiplica-se por sementes ou por estaquia dos artículos, prefere sol pleno, solos arenosos e tolera solos pobres, mas drenados. Esta espécie é conhecida popularmente por denominações como palma-miúda, palma-doce, urumbeta, cardo-de-cochonilha, nopal e nopalito (SOUZA E LORENZI, 2005).



Figura 1. *Nopalea cochenillifera* (L). Salm-Dick Barra: 5 cm

2.4 Usos populares e atividades biológicas

As cactáceas são vegetais amplamente utilizados na medicina tradicional por curandeiros e tribos indígenas no México. São principalmente utilizados como analgésicos, antimicrobianos, diuréticos, para problemas intestinais, tosses, afecções cardíacas e nervosas, para curar alguns tipos de úlceras e no controle de diabetes e colesterol (HOLLIS E SHEINVAR, 1995; SÁENZ HERNÁNDEZ, 2001).

Das várias espécies introduzidas no Brasil, duas apresentaram ótima adaptação: a palma miúda (*Nopalea cochenillifera*), e a palma grande ou redonda (*Opuntia* sp.) (MAIA NETO, 2000).

Entre os diversos usos e aplicações das palmas forrageiras, está a produção do corante carmim, de alto valor comercial, produzido pelo inseto do grupo dos coccídeos, a cochonilha *Dactylopius coccus*, que utiliza a palma como planta hospedeira (BARBERA, 2001). Tanto a cochonilha como o carmim são utilizados como corante vermelho nas indústrias alimentícias, farmacêutica, cosmética e no tingimento de lã. O inseto é um parasita específico das espécies do gênero *Nopalea* e *Opuntia* (FLORES-FLORES E TAKELENBURG, 2001).

As palmas são comumente consumidas frescas ou cozidas no México e parte dos Estados Unidos, e apresentam em sua constituição 92 % de água, 4-6 % de carboidrato, 1 % de proteína, 0,2 % de gordura, 1 % de minerais, vitamina C (12,7 mg/100g) e β -caroteno (12,9 μ g/100g) (FRATI-MUNARI et al., 1989).

As palmas apresentam várias atividades biológicas, dentre elas efeito diurético, antiglicêmico, antilipêmico e antiinflamatório. Os pacientes diabéticos tipo II que receberam diferentes doses de *Opuntia streptacantha* (Cactaceae) tiveram redução da glicemia (FRATI-MUNARI et al., 1988; FRATI-MUNARI et al., 1989).

De acordo com Frati-Munari et al., (1990) *Opuntia ficus-indica* obteve a mesma atividade hipoglicêmica. Em outro estudo com *O. ficus-indica* verificou-se em ratos que a mesma provoca aumento da diurese (GALATI et al., 2002).

O extrato dos frutos *Opuntia* sp. reduz os níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e aumento de lipoproteína de alta densidade (HDL) no plasma de cobaias (FERNANDEZ et al., 1990).

O extrato aquoso dos frutos de *Opuntia dillenii*, apresenta atividade antiinflamatória aguda pelo método de indução de carragenina (LORO et al., 1999). Park e colaboradores

(2001) demonstraram que o extrato etanólico dos cladódios de *O. ficus-indica* apresenta atividade antiinflamatória pelo o método de indução de granuloma em ratos.

Os cladódios de *N. cochenillifera* são utilizados na alimentação humana e de animais, bem como na proteção e conservação de solos, na fabricação de papel, de colas, mucilagem, de antitranspirantes e ainda como planta ornamental (BARBERA, 2001).

Em medicina tradicional *N. cochenillifera* é utilizada como diurético, antiinflamatório e analgésico, em particular para dor de ouvido e de dente, no tratamento de hipertensão e cálculos renais e como agente hipoglicemiante (LANS, 2006; CETTO E HEINRICH, 2005; PARK et al., 2001).

Estudos *in vitro* por método colorimétrico demonstraram que *N. cochenillifera* apresenta atividade antimicrobiana frente à *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Candida albicans* (GOMEZ-FLORES et al., 2006).

2.5 Aspectos morfoanatômicos

A análise morfoanatômica de espécies vegetais permite verificar a autenticidade de insumos e auxilia na geração de fitoterápicos com qualidade. Os caracteres morfoanatômicos são importantes para a diagnose de gêneros e espécies de Cactáceas (MAUSETH, 1989; SILVA E ALVES 1999; SOFFIATTI E ANGYALOSSY 2003).

Entre as espécies do gênero *Nopalea* as espinescências são marcadores morfológicos consistentes, pois em *N. dejecta*, por exemplo, os espinhos são grandes, enquanto que em *N. cochenillifera* os espinhos são pequenos, retos e hialinos (BARROSO et al., 1978).

O caule das cactáceas, apresenta-se verde, revestido por espinhos de forma, cor, dimensão e disposição variáveis reunidos em aréolas, substituindo as folhas (Figura 2) (BARROSO et al., 2002). A forma variável, caracterizada em um gênero constituído basicamente por um eixo globoso ou alongado (*Melocactus*, *Notocactus*), ou alongado e com gomos (*Cereus*, *Pilosocereus*) ou achatado no plano do eixo maior e segmentado (*Opuntia*, *Epiphillum*) ou ainda, excepcionalmente cilíndrico (*Rhipsalis*) (JOLY, 2002).

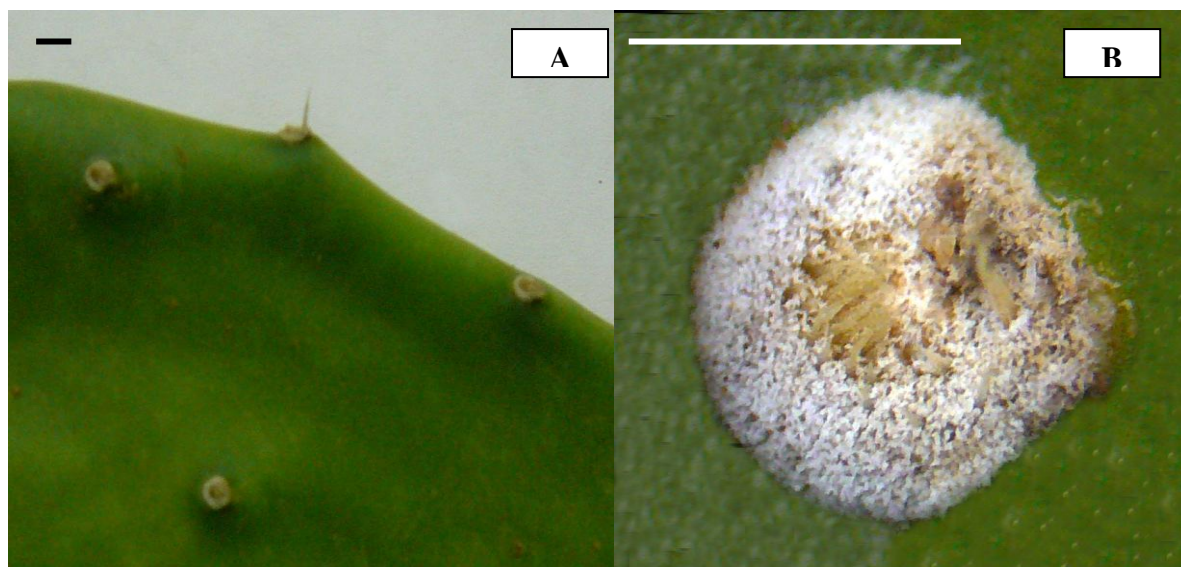


Figura 2. Cladódio de *Nopalea cochenillifera*. **A:** Cladódio com aréola e espinhos **B:** Aréola evidenciada. Barra: 1 cm

Assim como as características morfológicas, as características anatômicas como o padrão da forma das células epidérmicas e dos estômatos, o tipo de espessamento das paredes celulares do colênquima, a localização de feixes vasculares e o tipo dos mesmos, bem como a localização de estruturas secretoras são caracteres microscópicos úteis na diagnose de gêneros e espécies de cactáceas (METCALFE E CHALK, 1950; CONDE 1975; MAUSETH 1989, SILVA E ALVES 1999; SOFFIATTI E ANGYALOSSY 2003).

De acordo com Arruda et al., (2005) as cactáceas *Harrisia adscendens* e *Tacinga palmadora* apresentam células epidérmicas com parede celular sinuosa e ondulada, respectivamente (ARRUDA et al., 2005). Esta característica mostra a importância dessa variabilidade para o controle de qualidade destas drogas. Outra característica relevante é o número de camadas celulares da epiderme (MAUSETH, 2005).

Arruda et al., (2005) demonstraram que a cactácea *Harrisia adscendens* apresenta colênquima do tipo lamelar enquanto que as espécies do gênero *Tacinga* exibem células colenquimáticas do tipo angular. Mauseth (2005) destaca a diferença da quantidade de células do parênquima paliçádico, havendo diferenças significantes dentro de um mesmo gênero (Figura 3).

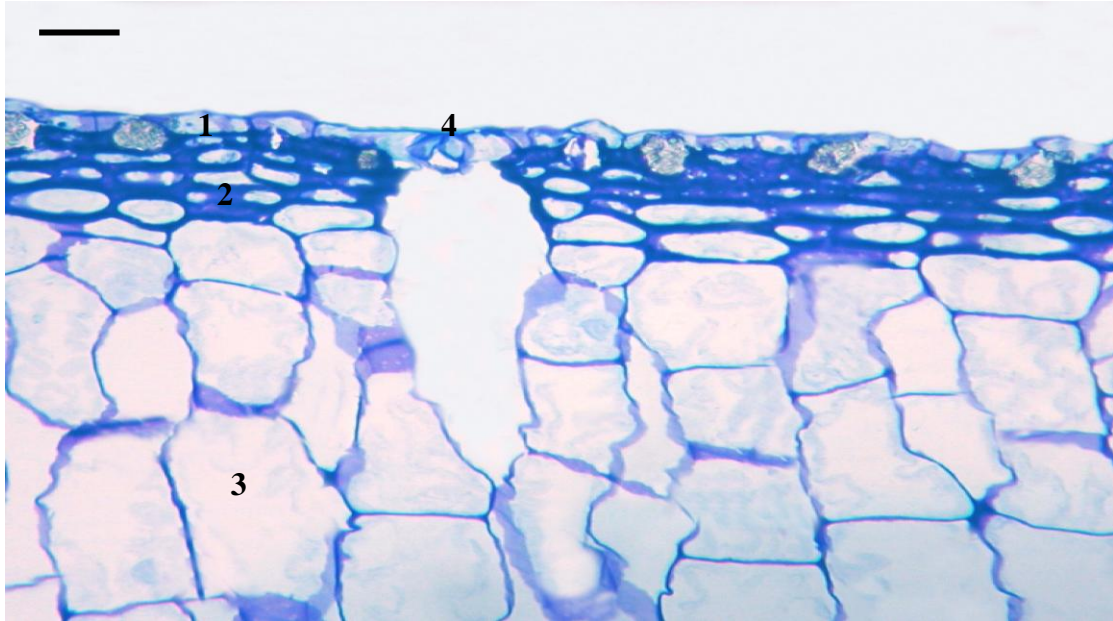


Figura 3. Secção transversal do cladódio de *N. cochenillifera* evidenciando epiderme, colênquima e parênquima. 1. Epiderme; 2. Colênquima; 3. Parênquima; 4. Estômato; Barra: 500 μm .

2.6 Histoquímica

A variedade na forma, na constituição química e a localização dos cristais nos tecidos vegetais é um elemento de autenticidade de drogas (CUTTER, 1987; FAHN, 1990; DICKSON, 2000; GARCIA, 2004).

A capacidade de muitas plantas para sintetizar metabólitos secundários, como compostos fenólicos, alcalóides e antocianina, está associada com sua disposição anatômica (AZEVEDO, 1998). A histoquímica das plantas (Figura 4) permite detectar a presença desses metabólitos, que poderão ser quantificados, em função da intensidade observada (SANTOS et. al., 2009).

Segundo Arruda et al., (2005) as espécies do gênero *Melocactus* apresentam cristais prismáticos nos cladódios, enquanto *Harrisia adscendens* os cristais são ausentes.

As estruturas de mucilagem são mencionadas como um dos caracteres adaptativos das cactáceas ao ambiente xérico, uma vez que estas são metabólitos relacionados ao armazenamento de água (SILVA E ALVES, 1999; DICKSON, 2000; SOFFIATTI E ANGYALOSSY, 2003). Estas estruturas são consideradas como um caráter útil na separação entre as subfamílias Cactoideae e Opuntioideae de Cactaceae, pois em Cactoideae ocorrem

unicamente células mucilaginosas, enquanto que em Opuntioideae ocorrem células e canais secretores de mucilagem (ARRUDA et al., 2005).

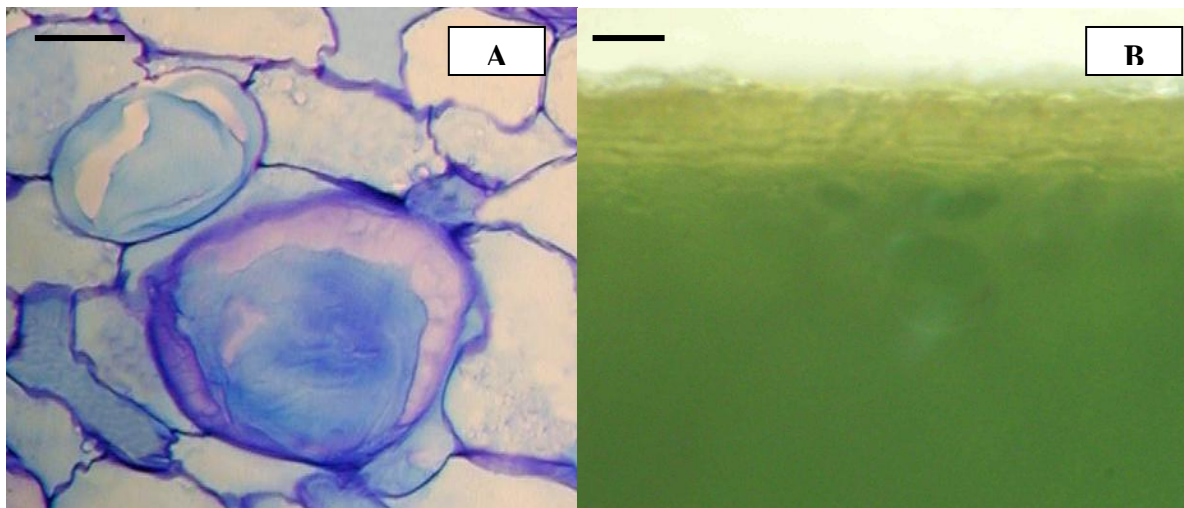


Figura 4. Análise histoquímica dos cladódios de *N. cochenillifera* **A:** Coloração por azul de toluidina a 0,05 % evidenciando a presença de células de mucilagem **B:** Coloração pelo reagente de Shinoda evidenciando flavonóides em células do colênquima. Barra: 250 μ m.

2.7 Metabólitos secundários e aspectos farmacológicos

Os metabólitos secundários variam de acordo com a família, gênero e espécie, muitas vezes por suas restrições, são determinantes, sendo um marcador taxonômico (BENETT, WALLSBROVE, 1994).

Nos cladódios de *N. cochenillifera* estão presentes, flavonóides, saponinas, taninos e antraquinonas, sendo destacada a ocorrência de β -sitosterol (TORRES et al., 2001; GOMEZ-FLORES et al., 2006). Ensaios histoquímicos dos cladódios *N. cochenillifera* indicam a presença de flavonóides na região do colênquima (NECCHI et al., 2010).

A diversidade química dos metabólitos obtidos de plantas, como os flavonóides, os esteróides, os taninos e as saponinas demonstram atividade antiinflamatória em vários modelos de inflamação, atuando sobre diferentes mediadores deste processo (RECIO et al., 1995; LYSS et al., 1997; PELZER et al., 1998).

Os compostos fenólicos apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas benéficas como a ação antiinflamatória. Entre eles destacam os flavonóides que possuem capacidade de inibir a atividade da monooxigenase, lipooxigenase, ciclooxigenase oxidoredutases, hidrolases como a hialuronato liase que catalisa a degradação do ácido hialurônico, sendo que em alguns casos as inibições podem ser competitivas, porém em outros podem ser alostéricas (HAVSTEEN, 2002; SVOBODOVÁ et al., 2003).

Os flavonóides constituem o maior grupo dos compostos fenólicos, sendo descritos mais de 8.000 compostos (RICE-EVANS E PACKER, 2003). Estes compostos possuem uma estrutura comum de difenilpropanos ($C_6 - C_3 - C_6$), constituídos de dois anéis aromáticos e um heterociclo oxigenado ligados através de três carbonos, os quais se subdividem em seis subclasses como isoflavona, antocianina, flavanona, catequina, flavona e flavonol (ROSS E KASUN, 2002).

Os taninos são polifenóis, classificados de acordo com sua estrutura química em hidrolisáveis e condensados. Os taninos hidrolisáveis dividem-se em galhotaninos e elagitaninos. As plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas moléstias orgânicas como a diarreia, hemorragias, hipertensão arterial, problemas estomacais e renais e processos inflamatórios (SIMÕES et al., 2004). De acordo com Scholz (1994) os elagitaninos e proantocianidinas das cascas de *Anacardium occidentale* atuam como antiinflamatórios, bloqueando a hialuronidase ativada e/ou a degranulação de mastócitos em ratos.

As saponinas possuem diversas propriedades farmacológicas, dentre elas, atividade antiinflamatória, hemolítica, antimicrobiana e antiviral. Muitas propriedades são facilmente detectadas e testadas, porém algumas atividades constatadas, não são empregadas na terapêutica devido aos efeitos tóxicos em organismos vivos. A atividade antiinflamatória dessa classe de substância é conhecida a longo tempo para as saponinas de *Aesculum hippocastanum* L. (castanheira da índia) e *Glycyrrhiza glabra* L. (alcaçuz) (SCHENKEL et al., 2002).

2.8 Processo inflamatório

O processo inflamatório consiste na resposta orgânica mais precoce diante de lesão tissular ou infecção. Este processo fisiológico envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido na qual ocorreu a lesão. Diante de um trauma tissular, o acúmulo local de prostaglandinas, tromboxanos e outros mediadores químicos ocasionam a sensibilização periférica da dor, que se caracteriza por uma alteração no limiar de nociceptores, com conseqüentes hiperalgia e/ou alodínia (SAKATA E ISSY, 2008).

A inflamação pode ser aguda, com duração relativamente curta apresentando alterações vasculares, edema e infiltração basicamente de neutrófilos; ou crônica, com duração mais longa, caracterizada pela infiltração de células mononucleares (macrófagos, linfócitos e plasmócitos), destruição tecidual, tentativa de reparo por reposição do tecido conjuntivo, proliferação de pequenos vasos sanguíneos e em particular, fibrose (RANG; DALLE; RITTER, 1997; ROBBINS et al., 2001).

Os oxidantes biológicos constituem um importante fator para a lesão tecidual que ocorre em conseqüência da resposta inflamatória. São eles, o ânion superóxido (O_2^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peróxido de nitrito, ácido hipocloroso (HOCl), oxidantes de caráter indefinido gerados pela peroxidase, como hidroxila, e possivelmente, o oxigênio singlete (O_2). A inibição da produção ou inativação por antioxidantes constitui uma importante estratégia para o tratamento dos distúrbios inflamatórios (CRAIG E STITZEL, 2005).

Os eicosanóides englobam as prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos e prostaciclina, e são derivados de um ácido graxo insaturado de 20 carbonos, o ácido araquidônico, sendo obtidos de fosfolipídeos da membrana e sintetizados novamente por estimulação celular. O ácido araquidônico pode seguir duas vias enzimáticas que levam a produção de mediadores da inflamação. A via iniciada pela cicloxigenase (COX) produz prostaglandinas (PGs), enquanto a via lipoxigenase leva à produção de leucotrienos (KUMMER E COELHO; 2002).

A diversidade de receptores específicos e os vários mecanismos reguladores explicam a variedade clínica de atuação das PGs, como: papel central da inflamação, coagulação sanguínea, ovulação, metabolismo ósseo, crescimento e desenvolvimento neuronal, cicatrização de feridas, função renal, tônus vascular e respostas imunes (KUMMER E COELHO; 2002).

Na inflamação ocorre aumento de prostaglandinas que são mediadores importantes na hiperalgesia (SAKATA E ISSY, 2008). A COX, também chamada prostaglandina H₂ sintetase (PGHS), é uma glicoproteína dimérica integral da membrana, encontrada predominantemente no retículo endoplasmático. Nas células dos mamíferos existem duas isoformas: a ciclooxigenase 1 (COX-1) e a ciclooxigenase 2 (COX-2) (GRAY et al., 2002) (Figura 6).

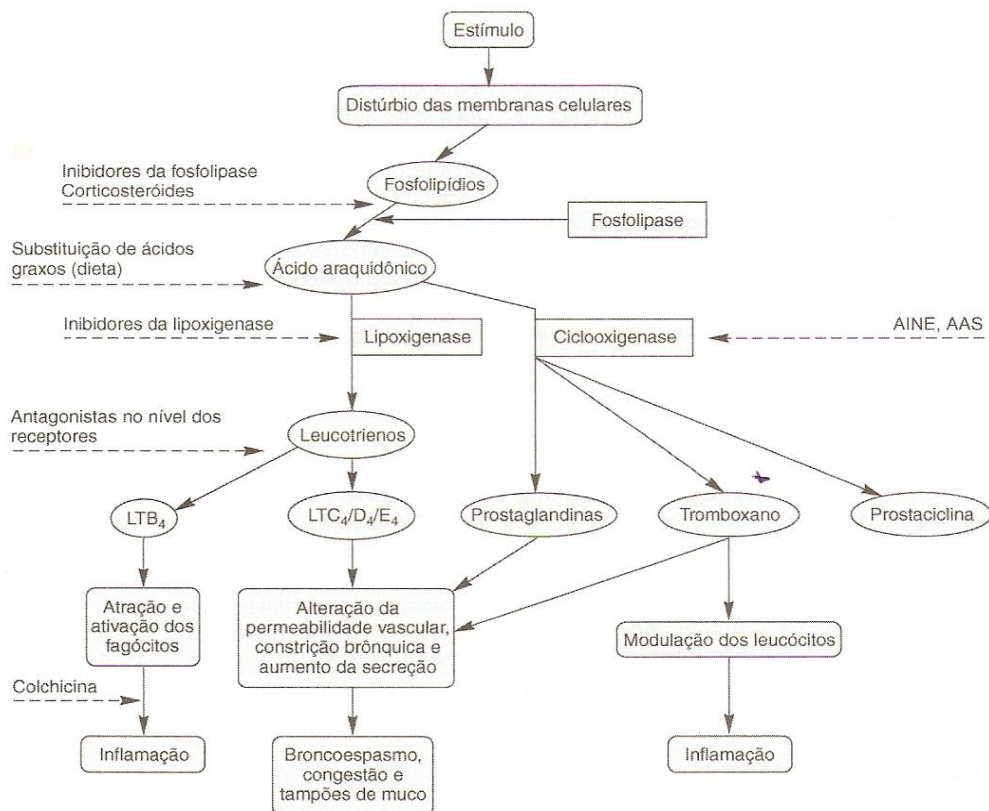


Figura 6. Esquema mostrando os mediadores derivados do ácido araquidônico e os locais de ação dos fármacos (KATZUNG, 2005).

2.8.1 Inflamação granulomatosa

A inflamação granulomatosa é um tipo de reação inflamatória crônica caracterizada pelo acúmulo de células epitelióides e macrófagos ativados. Os granulomas podem ser de dois tipos: de corpo estranho e imunes. O granuloma macroscopicamente assemelha-se a grãos (nódulos pálidos) e microscopicamente são coleções organizadas de macrófagos ativados,

com transformação em células epitelióides, e circundados por colar de linfócitos, ou ocasionalmente plasmócitos. As células epitelióides podem coalescer, dando origem a células gigantes multinucleadas (ROBBINS et. al., 2001)

A formação de granuloma pela implantação de *pellets* de algodão em ratos é um método que apresenta reprodutibilidade confiável para avaliar a atividade de agentes antiinflamatórios, em razão da capacidade do cilindro implantado de interferir com os componentes proliferativos do processo inflamatório (BAILEY et al., 1982). O ensaio de granuloma é utilizado para avaliar a fase transudativa, exsudativa e proliferativa da inflamação crônica. A implantação de algodão subcutâneo em ratos resulta na formação de granuloma no local do implante (MAYUREN E IIAVARASAN, 2009).

A infiltração celular é dividida em duas fases: uma fase aguda, com duração de cerca de dois dias, na qual a presença de leucócitos polimorfonucleares é a característica predominante, seguido por outro período de aumento do número de células mononucleares, principalmente macrófagos e proliferação celular (FREEMAN et al., 1982).

O granuloma, ao final do sexto dia, é caracterizado pela formação de cápsula fibrosa vascularizada, contendo fibroblastos e células mononucleares infiltrantes. Dessa forma, os resultados são interpretados de forma que, quanto menor a cápsula fibrosa desenvolvida, maior o efeito antiinflamatório do fármaco testado (BAILEY et al., 1982; DALMORA, 1996). O fluido absorvido pelo algodão é altamente influenciado pelo peso úmido do granuloma, e o peso seco correlaciona-se com a quantidade de tecido granulomatoso formado (SWINGLE E SHIDEMAN, 1972).

2.9 Antiinflamatórios Não-esteroidais

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) representam uma das classes de fármacos mais comumente usados em processos inflamatórios, apresentando uma boa atividade terapêutica (EICKHOFF et al., 1996). As drogas antiinflamatórias não-esteróides são geralmente utilizadas como antiinflamatórios, antipirético e analgésico, inibindo a atividade de COX. Os AINEs são amplamente usados por idosos no tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite e outras condições inflamatórias crônicas.

Estima-se que aproximadamente 75 milhões de prescrições médicas sejam de AINEs, e que aproximadamente 50 milhões de americanos utilizam esses fármacos regularmente (BANSAL et al., 2007). No Brasil, cerca de 80 milhões de pessoas fazem uso de automedicação, sendo que os AINEs estão entre os mais utilizados pela população (SAKATA E ISSY, 2008). A maioria dos AINEs são considerados seguros, mas podem causar vários efeitos colaterais em uma fração significativa dos pacientes tratados por via oral, incluindo toxicidade hepática, renal e irritação da mucosa gástrica (KONTOGIORGIS et al., 2002).

A nimesulida é um fármaco pertencente à classe dos AINEs, inibidor seletivo de COX-2, comumente utilizado em processos inflamatórios agudos e/ou crônicos, tais como: inflamação do trato respiratório, da cavidade oral e em situações inflamatórias associadas como tendinite, sinovite e artrite reumatóide. Porém sabe-se que a administração oral da nimesulida pode causar inúmeros efeitos adversos, incluindo desde indisposições gastrointestinais até toxicidade hepática e renal (WHITTLE et al., 2003; TRAVERSA et al., 2004).

Além da ação antiinflamatória, a nimesulida apresenta, ainda, atividade antioxidante. Para os AINEs essa ação é considerada de grande interesse, pois a produção de radicais livres, além de contribuir na inflamação e dor, pode causar danos nos tecidos (VANE et al., 1998).

2.10 Ação antiinflamatória em plantas

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças inflamatórias apresenta, fundamentalmente, influências da cultura indígena, africana e européia. Essas influências deixaram marcas profundas nas diferentes áreas da cultura brasileira, sob o aspecto material e espiritual e constituem a base da medicina popular que há algum tempo vem sendo retomada pela medicina natural. A medicina natural procura aproveitar suas práticas, dando caráter científico e integrando-as em um conjunto de princípios que visam não apenas curar algumas doenças, mas restituir o homem à vida natural (MARTINS et al., 2000).

Williams et al., (1995) relatou que extrato de *Tanacetum parthenium* (Asteraceae) pode inibir a ciclooxigenase e a 5-lipooxigenase através da tanetina, um flavonol lipofílico. Este flavonol inibiu um derivado do ácido araquidônico, indicando uma ação antiinflamatória. O mesmo ocorre com outros flavonóides que podem inibir ciclooxigenases, monooxigenases

lipooxigenases através do metabolismo do ácido araquidônico (ROTELLI et al., 2003; SVOBODOVÁ et al., 2003).

Pupo et al., (2008) avaliaram a atividade antiinflamatória da fração etanólica de *Bouchea fluminensis* (Verbenaceae) pelo método de granuloma em ratos e encontraram um significativo efeito antiinflamatório.

Pelo mesmo método, Park et. al., (2001) demonstraram que o extrato etanólico dos cladódios de *Opuntia ficus-indica* (Cactaceae) apresenta atividade antiinflamatória significativa quando comparado a hidrocortisona como padrão positivo. Atribuíram esta atividade ao β - sitosterol isolado na amostra que é um esteróide predominante nas cactáceas (SALT et al., 1987).

Rotelli et al., (2003) verificaram o efeito de alguns flavonóides, em modelos experimentais de inflamação em ratos, demonstrando a inibição significativa da formação de granuloma, com a injeção intraperitoneal prévia de quercetina em doses de 50mg/Kg.

Paola et al., (2005) relataram a ação antiinflamatória do extrato de *Camellia sinensis* (chá verde), o qual reduz o edema causado pela carragenina, diminuem os níveis de células polimorfonucleares, os níveis de TNF-c (fator de necrose) e os níveis de NO.

Os extratos de *Mikania laevigata* (guaco-do-mato) e de *Mikania involucrata* (cipó-sem-nome), reduzem tanto o volume do exsudato, quanto a migração de leucócitos e de células polimorfonucleares na pleurisia induzida por carragenina (SUYENAGA et al., 2002).

A utilização de agentes inflamatórios, como a carragenina, induz a síntese e liberação de prostaglandinas (DI ROSA et al., 1971; SANTOS E RAO, 1998). A carragenina induz exsudato rico em proteínas que contém grande número de neutrófilos (LO et al., 1982), e apresenta três fases distintas envolvidas na resposta inflamatória aguda. A primeira relaciona-se à liberação de histamina e serotonina, a segunda fase envolve a liberação de bradicinina enquanto as prostaglandinas estão envolvidas na última fase (DI ROSA et al., 1971).

O extrato aquoso dos frutos de *Opuntia dillenii* (Opuntiae), apresentou atividade antiinflamatória aguda pelo método de indução de carragenina quando administrado via intra peritoneal em ratos na dose 100-400 mg/kg, quando comparado a indometacina 5mg/kg como controle positivo (LORO et al., 1999).

O extrato de *Conocliniopsis prasiifolia* (Asteraceae) apresenta atividade antiinflamatória *in vitro* nas concentrações de 25 e 50 μ g/ml, pelo método de inibição da degranulação dos neutrófilos peritoneais de ratos e esta atividade foi atribuída à presença de flavonóides (SILVA et al., 2008).

2.11 Parâmetros bioquímicos para toxicidade hepática

A comprovação de atividades farmacológicas não é suficiente para o uso seguro das plantas medicinais. São essenciais os estudos biológicos de avaliação toxicológica destes produtos.

A aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) são enzimas intracelulares presentes em grande quantidade no citoplasma dos hepatócitos. As lesões ou destruição das células hepáticas liberam essas enzimas para a circulação. A ALT é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST está presente na mitocôndria. Em dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é citoplasmática, enquanto lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT. Essa diferença auxilia no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas (MOTTA, 2003).

A albumina compreende cerca de 60% das proteínas presentes no plasma humano. É sintetizada no fígado em velocidade dependente da ingestão protéica, mas regulada por retroalimentação pelo teor de albumina circulante (MOTTA, 2003).

A albumina possui várias funções fisiológicas e farmacológicas, como o transporte de metais, ácidos graxos, colesterol, pigmentos biliares e drogas. É a proteína mais abundante no plasma humano e exerce uma importante atividade antioxidante pela remoção de radicais livres. No processo inflamatório ocorre aumento da permeabilidade vascular pela liberação de substâncias químicas pelos neutrófilos ativados. Nestes locais, as concentrações de albumina podem ser reforçadas exercendo suas propriedades antioxidantes múltiplas (ROCHE et al., 2008).

A albuminemia é utilizada no cálculo de gravidade da insuficiência hepática e possui uma meia vida relativamente longa (20 dias), e os seus níveis séricos são normais na doença hepática aguda (PUGH et al., 1973; GREEN et al., 2004).

As doenças hepáticas crônicas podem diminuir os níveis séricos de albumina por alterar a sua síntese devido ao dano hepatocelular, deficiência na ingestão de aminoácidos, aumento de perdas de albumina por doenças e catabolismo induzido pelo estresse fisiológico (MOTTA, 2003; GREEN et al., 2004).

2.12 Parâmetros bioquímicos para a toxicidade renal

Os antiinflamatórios não esteroidais ao inibir as prostaglandinas produzem efeitos que podem comprometer a função renal. A vasodilatação induzida por PGE₂ e PGI₂ no aparelho justaglomerular, aumenta o fluxo sanguíneo renal, antagoniza a renina e inibe a reabsorção de Na⁺ e H₂O (CRAIG E STIZEL, 2005).

Um dos efeitos da insuficiência renal é a alta concentração de nitrogênio não protéico no sangue, como a uréia e a creatinina devido à incapacidade do organismo de excretar os produtos metabólicos finais das proteínas. A concentração desses nitrogênios não protéicos, em particular a uréia, pode aumentar até 10 vezes o valor normal durante a 1^a a 2^a semanas de insuficiência renal. Porém, a uréia não é tão específica como a creatinina, e isoladamente, não é determinante para a avaliação da função renal (GUYTON E HALL, 2002).

Os aminoácidos provenientes do catabolismo protéico são desaminados com a produção de amônia. Como esse composto é potencialmente tóxico, é convertido em uréia (NH₂-CO-NH₂) no fígado associado ao CO₂. Após a síntese hepática, a uréia é transportada pelo plasma até os rins, onde é filtrada pelos glomérulos. A uréia é excretada na urina, embora 40-70% seja reabsorvida por difusão passiva pelos túbulos. Um quarto da uréia é metabolizado no intestino para formar amônia e CO₂ pela ação da flora bacteriana normal. Essa amônia é reabsorvida e levada ao fígado onde é convertida em uréia. O nível de uréia no plasma é afetado pela função renal, conteúdo protéico da dieta e teor de catabolismo protéico, estado de hidratação do paciente (MOTTA, 2003).

A hiperuremia está presente nas enfermidades renais com diferentes tipos de lesões e a hipoureemia pode ser encontrada na presença de insuficiência hepática, pois o fígado lesado é incapaz de sintetizar uréia a partir da amônia proveniente do metabolismo protéico (MOTTA, 2003).

A creatinina é produzida como resultado da desidratação não enzimática da creatina muscular. A creatina é sintetizada no fígado, rim, pâncreas e transportada para as células musculares, onde é fosforilada a creatina-fosfato (substância que atua como reservatório de energia). Tanto a creatina-fosfato como a creatina, em condições fisiológicas, espontaneamente perdem o ácido fosfórico ou água, respectivamente para formar seu anidrido, a creatinina. A creatinina difunde do músculo para o plasma de onde é removida quase inteiramente e em velocidade relativamente constante por filtração glomerular. A quantidade de creatinina excretada diariamente é proporcional à massa muscular e não é

afetada pela dieta, idade, sexo ou exercício. A velocidade de excreção da creatinina é relativamente constante e sua produção não é influenciada pelo metabolismo protéico ou outros fatores externos. A concentração de creatinina sérica é uma excelente medida para avaliar a função renal. Os teores de creatinina sérica são mais sensíveis e específicos do que a medida de concentração plasmática da uréia plasmática no estudo da velocidade de filtração glomerular reduzida (RAVEL, 1997; MOTTA, 2003).

A dosagem da creatinina sérica apresenta diversas limitações na avaliação da função renal. Pois, sofre secreção tubular, levando a uma super estimativa da filtração glomerular, especialmente em pacientes com função renal diminuída. É considerada pouco sensível, pois apenas detecta quedas na filtração glomerular superiores a 50% e, além disso, não identifica alterações rápidas na função renal. A relação entre creatinina sérica e a filtração glomerular é afetada pelas diferenças em sua geração, levando a variações da sua concentração sérica de acordo com a idade, dieta, massa muscular, sexo e raça (PERRONE et al., 1992; WALSER, 1998).

A depuração da creatinina tem uma vantagem sobre a da uréia, em virtude de a taxa de produção de creatinina ser mais constante do que a da uréia. Como o valor sérico faz parte da fórmula de depuração, a ocorrência de menor flutuação no nível sérico permite colheitas de urina a intervalos maiores, além de fornecer resultados mais reproduzíveis. Além disso, verifica-se uma menor alteração da excreção de creatinina do que de uréia. Considerações teóricas e clínicas mostraram que a depuração da creatinina constitui uma melhor estimativa da taxa de filtração glomerular do que a depuração da uréia. Por conseguinte, a depuração da creatinina substitui a da uréia na maioria dos laboratórios (RAVEL, 1997).

3. PUBLICAÇÕES

3.1 Artigo I

- Morphology and histochemistry of cladode of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dick (Cactaceae)

3.2 Artigo II

- Antiinflammatory activity and biochemical parameters of the ethanol extract of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae)



Morphology and Histochemistry of Cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae)

Raquel M.M. NECCHI ^{1*}, Gilberto D. ZANETTI ², Tiago D.T. MAKI ²,
Lauri A.J. ROYER ² & Melânia P. MANFRON ²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas and

² Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, Prédio 26, Santa Maria, Rio Grande do Sul, CEP 97105-900, Brasil.

SUMMARY. Morphoanatomical parameters, for macroscopic and microscopic analyses of the cladodes of *Nopalea cochenillifera*, plant recognized traditionally like medicinal, allow his authenticity. The phylloclades have wavyness and areoles with three straight and hyaline thorns. The uniseriate epidermis has parallelocytic stomata and mucilaginous cells, followed by an annular collenchyma and a palisade parenchyma on average with eight cell layers. The vascular region is constituted by isolated vascular bundles of the open collateral type. The central cylinder is composed by a parenchymatic medulla. The mucilage structures and the druses of calcium oxalate are present in cortical region in and central cylinder. They are in bigger number near to the vascular bundles. The druses also take place in the first layer of the collenchyma. These morphoanatomical characteristics, when taken together, are consistent in the botanical control of quality of this vegetable sort.

INTRODUCTION

The family Cactaceae comprises about 1900 species in 125 genera ^{1,2}. This botanical family occurs mainly in tropical and temperate regions of the Americas, especially in semiarid regions, but some species reach a wide variety of habitats, including rain forests ²⁻⁵.

Nopalea cochenillifera (L.) Salm-Dyck (Fig. 1) is a naturally occurring Cactaceae from Mexico to Panama and is acclimatized in several countries ^{5,6}. It is commonly found as plant alone or in groups, forming large cultivars or defensive enclosure. Multiplied by seeds or by cuttings of cladode, prefers full sun, sandy soils and drained ³. This cactus plant is a shrub that reaches 3 to 4 m of height with a stem showing flattened and fleshy cladodes, assuming a favorable disposition to give shadow to each other. The shading mechanism is essential for the survival of this species, since this plant occurs in open place, with full sun and very hot temperature. Moreover, cladode itself is an adaptation to the environment, as this type of stem is characterized by performing the process of photosyn-



Figure 1. General view of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck. Bar size: 5 cm.

thesis, since the leaves are reduced to thorns by xeromorphy ^{3,7}.

The cladodes of *N. cochenillifera* are used as food for humans and animals, for protection and conservation of soils, to manufacture of paper, glues, dyes, mucilage, antiperspirants and even as an ornamental plant ⁸. In traditional medicine, *N. cochenillifera* is used as a diuretic, anti-inflammatory and analgesic, in the treat-

KEY WORDS: Cactaceae, Histochemistry, Morphoanatomical, *Nopalea*, Pharmacobotany.

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

ment of hypertension and kidney stones, and like hypoglycemic agent⁹⁻¹¹. *N. cochenillifera* *in vitro* antimicrobial activity showed to *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, and *Candida albicans*¹².

In cladodes of *N. cochenillifera* was verified the presence of flavonoids, tannins, saponins and anthraquinones^{12,13} and highlighted the occurrence of β -sitosterol which was attributed to anti-inflammatory activity^{11,12}.

Morphoanatomical parameters of a determined vegetable organ of medicinal importance, as the cladodes of *N. cochenillifera*, may be used as a resource in the botanical control of quality to be used as pharmaceutical raw materials, enabling the authenticity of the material plant, allowing the differentiation between botanical species that are very close¹⁴. This study aimed to provide reason for the authenticity of the cladodes, contributing to the production of morphoanatomical patterns.

MATERIALS AND METHODS

Collection of plant material

Cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck were collected in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. A sample of plant material was identified and deposited in the Herbarium of the Department of Biology, as voucher SMDB 11 835.

Anatomical analysis

Morphological analysis was performed using binocular stereomicroscope, taking as a basis for the macroscopic description Gattuso & Gattuso¹⁵, Oliveira & Akisue¹⁶ and Lorenzi & Gonçalves¹⁷. For the anatomical analysis were used paradermic and transversal sections of the cladodes. The paradermic sections were performed with fresh material and free hand. Semi-permanent slides were made using glycerol and methylene blue 0.05% like dye¹⁸. To analyze the transversal section, the median-apical part of the cladodes was sectioned (2 x 2 x 2 mm), fixed in glutaraldehyde 2 % in buffered saline with phosphate 0.013 M, pH 7,2 and kept under refrigeration at 4 °C for 48 h. The material was dehydrated in ascending ethanol series from 30 to 96 °GL, 1 h each alcohol, and included in blocks of hydroxyethylmethacrylate^{18,19}. In rotary microtone, sections were made of 4 μ m which were carried to histological bath passed on to the slide and colored with toluidine blue 0.05%¹⁹.

The presence of mucilage was detected by

using toluidine blue 0.05%, as well as methylene blue 0,15% and china ink to 0.25%²⁰. The chemical composition of the crystals was observed with acetic acid 6% or hydrochloric acid 7%²⁰. The presence of starch grains and flavonoids was determined by use of specific reagents to this chemical groups such as Costa²⁰. All sections were analyzed according to Appezzato-da-Glória & Carmello-Guerreiro²¹, Dickison²², Fahn²³, Cutter²⁴ and Metcalfe & Chalk²⁵. The material was microphotography in microscope equipped with a digital camera, and the slides were deposited in the slide collection of the Department of Industrial Pharmacy, Federal University of Santa Maria.

RESULTS

Determination of macroscopic characteristics

The cladodes of *N. cochenillifera* (Fig. 2) are fleshy, green and flattened stems, characterized as a phylloclade. They show the oval-spatulate form and reach an average of 15 to 20 cm of length, 0.8 to 1 cm of thickness and 5 cm of width in the median and apical region, but the basal region has on average 2 cm of width. The surface of the cladodes is wavy, glabrous, and dull green color with small light brown marks in the stereomicroscope throughout its surface. They have thorns every 4 or 5 cm from the surface of the cladodes. In the apical region this spacing decreases from 1 to 0.5 cm or less. Sometimes is formed a small group of thorns in this region. The thorns are straight, lanciforms, hyaline and rigid. Usually the biggest thorn reaches 1 mm of length and is between two smaller ones with about 1/3 of its size. The three thorns occupy the central areole with a grayish brown sandy aspect. The areoles are invariably in small elevations on surface of the cladodes and reaches 1 to 2 mm of diameter and has a small projection (tail shape) with 0.5

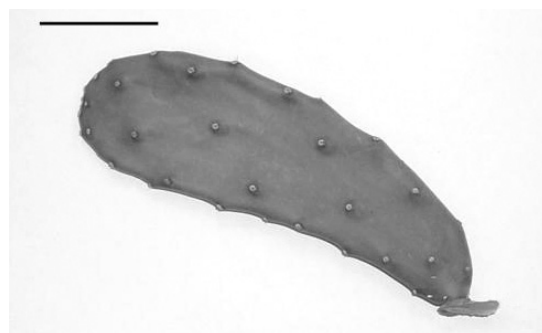


Figure 2. General view of a phylloclade of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck. Bar size: 5 cm.

mm of length. Cladodes in transversal section have two regions: the peripheral, which has 1 mm thickness and green color, and the internal region that reaches 6 to 8 mm of thickness and has mucilaginous appearance and clear color.

Determination of microscopic characteristics

In frontal view, the epidermal cells of *N. cochenillifera* have thin and straight anticlinal cell walls and the stomata are parallelocytic type (Fig. 3 A-B).

Transversal section of cladodes shows an uniseriate persistent epidermis, constituted by pavement or cubic cells. The outer periclinal wall of epidermal cells is slightly concave, accompanied by a continuous cuticular folds. Pavement cells reach 250 µm of length and 125 µm of width. The cubic cells reached 125 µm. These two cell types are distinguished for the format and the cytoplasmic content, since in the presence of toluidine blue 0.05%, only the cubic cells appear filled by a mucilaginous substance. The ratio between pavement cells and cubic cells is 1:1 or 2:1, and sometimes reaches 6:1, respectively. The stomata are at level respect to the rest of epidermal cells. They have guard cells with reduced size, the interior is triangular shaped and, invariably, have substomatic cavity that reaches 1875 µm of length and 625 µm of width. The large cavity goes beyond the layer of epidermal cells, being in several cell layers in the cortical region of the cladodes.

Below the epidermis there is a collenchymatic hypodermis followed by parenchyma. The hypodermis is constituted by 4 to 5 cell layers of an annular collenchyma, the interior reaches 75 to 125 µm of length and 250 to 500 µm of width. After this collenchyma exist a parenchymatic formation, constituted by 8 layers of overlapping elongated cells (reaching a length from 1000 to 1375 µm and 750 µm of width), describ-

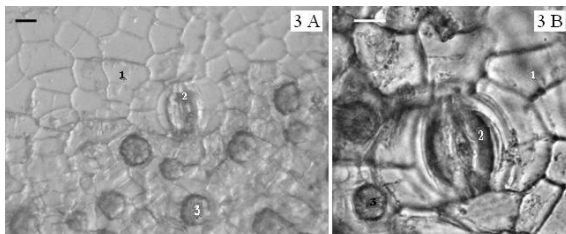


Figure 3. Paradermal section in frontal view of the cladode of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck, showing the epidermis. **1:** Epidermal cells; **2:** parallelocytic stomata; **3:** druses viewed by transparency. Bar size: 250 µm.

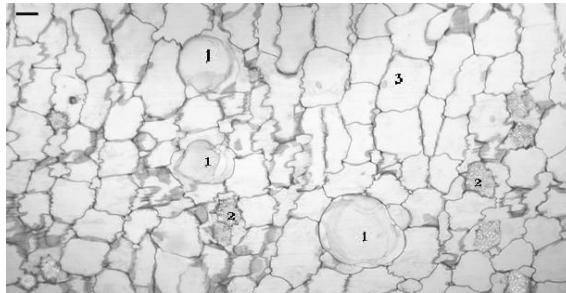


Figure 4. Transversal section of the cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck showing the cortical region. Legend: **1.** Mucilage cells **2.** Idioblasts with druses **3.** Parenchymatic cells. Bar size: 500 µm.

ing a palisade parenchyma with fine cell walls. The inside of the cortical tissue, is an extension of parenchyma with rounded cells which has approximately 1250 µm of diameter (Fig. 4).

The vascular system is constituted by small vascular bundles of phloem and xylem variably ordered and surrounded by parenchyma. The vascular bundles are the open collateral type. They are protected by a sheath of parenchymatic cells which are differentiated from others around them, because of the cytoplasmic content more clear, and with dimensions about 100-200 µm. The phloem is compact, the xylem occupies a larger size than phloem, and has aquifer parenchyma. The central cylinder consist of a parenchymatic medulla with oval cells (1500 µm of length and 1250 µm of width).

In all parenchymatic configurations, with the exception of the palisade, occur mucilage secretory structures. The mucilage content of these structures was detected with toluidine blue 0.05% (Figs. 4 and 5 A) and confirmed by the use of china ink or methylene blue in sections of fresh material^{20,26}. In the cortical region are rounded mucilage cells and they have about 1250 µm of diameter. In the region near of the vascular bundles and in the medullar region, the mucilages ducts present oval form and reach 2000-2500 µm of length and 750-1250 µm of width. They are grouped.

In all anatomical regions of the cladodes, with the exception of the epidermis, there are crystals in the form of druses (Fig. 4 and 5 B) that are formed by calcium oxalate. In presence of acetic acid 6%, they are insoluble, and in presence of acid hydrochloric 7%, solubilize without producing effervescence. In the collenchyma, below the epidermis, the idioblasts crystalliferous are rounded, with a diameter of approximately 250 µm and have only one druse occupying almost the entire cell cavity. The cor-

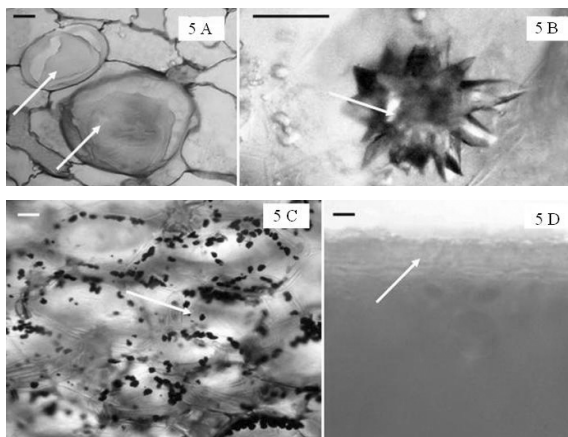


Figure 5. Transversal section of the cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dick in different histochemical tests. **A.** Coloration by toluidine blue 0.05 %, showing the presence of mucilage cells. **B.** Detection of crystal of calcium oxalate in the form of druses in a parenchymatic cells. **C.** Coloration by lugol reagent showing starch grains in parenchymatic cells. **D.** Coloration by Shinoda reagent showing flavonoids in collenchymatic cells. Bar size: 250 μm .

tex and medullar parenchyma also have idioblasts crystalliferous containing only one druse, and the frequency of these idioblasts and size of crystals increases in the region near the mucilaginous structures and around the vascular bundles.

The presence of starch, was verified with the addition of lugol (Fig. 5 C). In the transversal section of the cladodes was detected over the entire length of the cortex and medullar parenchyma, however there is a range of three cell layers near of the region where the vascular bundles are, with greater abundance. The starch grains in *N. cochenillifera* are characterized as isolated, small and rounded structure with a central hilum. Flavonoids were detected, through the potassium hydroxide and hydrochloric acid reagents²⁰, by the development of yellow color in the subepidermal collenchymatic region (Fig. 5 D).

DISCUSSION

The form of the cladode and the areoles, as wells as the morphological type of thorns, according Mauseth²⁷ and Barroso *et al.*²⁸, are morphological characters often used in the identification of cactus. The form of the cladodes is fundamental to characterize the genera *Nopalea*, the majority of others genera of cactus present columnar stem or globular and very few cactus have flattened stems as in *Nopalea*^{6,29}. Considering the phenotypic plasticity of *Nopalea*

cochenillifera, the cladodes characters like juicy and plan aspect, the wavy and glabrous surface, areoles with hairs, hyaline and straight thorns, are in agreement with Taylor & Zappi², Barroso *et al.*²⁸ and Bertrand & Guillaumin³⁰.

Despite the morphological similarities between genera *Opuntia* and *Nopalea* emphasized that *N. cochenillifera* differs from species of the genera *Opuntia* by the thorns (glochids type), cladodes generally spherical shaped, and the basal branching of the stem^{17,28}. Among the species of the genera *Nopalea* the thorns are consistent morphological markers, as in *N. dejecta*, for example, the thorns are large, while in *N. cochenillifera* they are small, straight, and hyaline²⁸.

The standard form of epidermal cells and stomata, the type of thickening of the collenchyma cell walls, the location of vascular bundles and the type of them, as well as the location of secretory structures are microscopic characters useful in diagnosis of genera and species of cactus^{27,31-33}.

The anticlinal epidermal cell walls straight of the cladodes of *N. cochenillifera*, is a feature that contrasts with other cactus species as *Harrisia adscendens* and *Tacinga palmadora*, showing respectively, cell walls sinuous and wavy³⁴. This feature shows the importance of variability in epidermal elements, which can be found even in the powder plant in form of fragments. Another feature relevant to the epidermis is the number of cell layers, because in species such as *N. auber* the epidermis is multiseriate, whereas *N. cochenillifera* has epidermis uniseriate³⁵.

Nopalea cochenillifera presents parallelocytic stomata type with small guard cells, and a large substomatal cavity. The size of the substomatal cavity and guard cells is a common feature among the cactus but the location of the stomata for the line of epidermal cells varies^{31,34,36}. In *N. cochenillifera* the stomata are at level with the other epidermal cells, and this characteristic distinguishes this species from *Tacinga palmadora* presenting stomata above the epidermis³⁴.

The annular collenchyma of *N. cochenillifera* differentiates it from other cactus as *Harrisia adscendens*, presenting collenchyma of the lamellar type and species of *Tacinga* that have angular type³⁴. All these species have collenchymatic subepidermal tissue, but the difference among the thickness of the cell wall patterns, is a character useful in the differentiation between *N. cochenillifera* and other species.

The cactus differ in the amount of palisade parenchyma cells, important character in *Nopalea*, because *N. karwinkianam* has nineteen layers of palisade parenchyma³⁵, while *N. cochenillifera* has on average eight layers of this tissue.

In *Nopalea cochenillifera* the large vascular bundles have a special tissue of water reservoir, called aquifer parenchyma, in greater proportion than the vessel elements and xylem fibers. This feature is observed in several cactus species as in the genera *Melocactus* and *Tacinga*^{31,34,37}.

In the presence of concentrated hydrochloric acid, flavonoids developed yellow color³⁸ which was evidenced in the region of hypodermic cladodes of *N. cochenillifera*. This fact confirms the studies of Gomez-Flores *et al.*¹² citing the presence of flavonoids in their cladodes.

The great variety in shape, chemical composition and location of crystals in plant tissues is widely used in pharmacobotany in the authenticity of drugs^{22-24,39}. The presence of druses of calcium oxalate in *N. cochenillifera*, contrasts with the prismatic crystals found in cladodes of species of the genera *Melocactus*, as well as with *Harrisia adscendens*, where crystals are absent from their cladodes³⁴.

The mucilage structures that occur in cladodes of *N. cochenillifera* increase in number and

size in the medullar region and in the region closely to the vascular bundles. This trait differs from other species of cactus, such as genera *Tacinga* where the mucilage structures occur only associated with vascular bundles³⁴. The presence of mucilage structures is referred as an adaptative character to the xeric habitat, since these metabolites are related to water storage^{22,31,32}. The mucilaginous structures are considered to be an useful character in separating the subfamilies Cactoideae and Opuntioideae from Cactaceae, since in Cactoideae occurs only mucilaginous cells, while Opuntioideae occurs cells and secretory ducts of mucilage³⁴.

CONCLUSIONS

The shape of phylloclades, the glabrous and wavy surfaces of them; the areoles with three straight thorns; the thickness cell wall patterns of collenchymatic tissue, the number of layers of palisade parenchyma, the presence of an uniseriate epidermis and persistent, the occurrence of parallelocytic stomata types, and folded cuticle, as well as the shape and location of the mucilage structures and crystals types, are significant characters like morphoanatomical markers for *N. cochenillifera*. These features, when taken together, allow its authenticity and differentiation from other taxa.

REFERENCES

1. Areces, A. (2004) "Cactaceae", in "Flowering plants of the Neotropics", (Smith, S.A.N. Mori, A. Henderson, W.D. Stevenson & S.V. Heald, eds.) Princeton & Oxford University Press, pp. 73-6.
2. Taylor, N. & Zappi, D. (2004) *Cacti of Eastern*. The Royal Botanic Garden, Kew.
3. Souza C.V & H. Lorenzi (2005) "Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II" Nova Odessa, Instituto Plantarum. São Paulo.
4. The Angiosperm Phylogeny Group (2003) *Bot. J. Linn. Soc.* **141**: 399-436.
5. Hunt, D. & N. Taylor (1990) *Bradleya* **8**: 85-107.
6. Barbosa, M., S. Mayo, A. Castro, G. Freitas, M. Pereira, P. Neto & H. Moreira (1996) "Checklist preliminar das angiospermas" in "Pesquisa botânica nordestina. Progresso e perspectivas" (E. Sampaio, S. Mayo & M. Barbosa, eds.) Pesquisa SBB, Recife, pp. 253-415.
7. Terrazas, T. & J.D. Mauseth (2002) "Stem anatomy and morphology" in: "The cacti: biology and uses" (P.S. Nobel, ed.) California University Press, Berkeley, pp. 47-60.
8. Barbera, G. (2001) "História e importância econômica e agroecologia", in: "Agroecologia, cultivo e usos da planta forrageira", (Barbera, G. & P. Inglese eds.) Paraíba: SEBRAE/PB, pp. 1-11.
9. Lans, C.A. (2006) *J. Ethnobiol Ethnomed.* **13**: 2-45.
10. Cetto, A.A. & M. Heinrich (2005) *J. Ethnopharmacol.* **99**: 325-48.
11. Park, E.H. & M.J. Chun. (2001) *Phytotherapy* **72**: 165-7.
12. Gomes-Flores, R., P. Tamez-Guerra, R. Tamez-Guerra, C. Rodriguez-Padilha, E. Monreal-Cuevas, L.A. Hauad-Marroquim, C. Cordova-Puente & A. Range-Llanas (2006) *Am. J. Infect. Dis.* **2**: 1-8.
13. Torres, T. M., G. A. Trejo, S.R. Posadas, G.J. Zamora, C.M. Ichazo, G.A. Meave, S.G. Cardoso & R.C. Posadas (2001) *Rev. Med.* **39**: 491-9.
14. Di Stasi, L. C. (1996) "Plantas medicinais: Arte e ciência" UNESP, São Paulo.

15. Gattuso, M.A & S. J. Gattuso (1999) "*Manual de procedimento para analisis de droga em polvo*" Ed. Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
16. Oliveira, F. & G. Akisue (1989) "*Fundamentos de farmacobotânica*" Ed. Atheneu, São Paulo.
17. Lorenzi, H. & G. E. Gonçalves (2007) "*Morfologia Vegetal. Ornografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares*" Instituto Plantarum de estudos da flora, São Paulo.
18. Gerrits, P. O. & L. Smid (1983) *J. Micr.* **132**: 81-5.
19. Ruetze, M. & U. Schmitt (1986) *Eur. J. For. Path.* **16**: 321-4.
20. Costa, A. F. (1982) "*Farmacognosia*" Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 2 ed., vol. 3.
21. Appezzato-Da-Glória, B. & S. M. Carmello-Guerreiro (2003) "*Anatomia Vegetal*" Editora UFV, Viçosa.
22. Dickison, W. C. (2000) "*Integrative Plant Anatomy*" Harcourt Academic Press, San Diego.
23. Fahn, A. (1990) "*Plant anatomy*" Pergamon Press, Oxford.
24. Cutter, E.G. (1987) "*Anatomia vegetal. Parte II – Órgãos. Experimentos e interpretações*" Ed. Rocca, São Paulo.
25. Metcalfe, C. & L. Chalk (1950) "*Anatomy of the Dicotyledons*" Clarendon Press, Oxford, vol. 2.
26. O' Brien, T. P & M.E, Mc Cully (1981) Melbourne Termocarphyty.
27. Mauseth, J. (1989) *Bradleya* **7**: 1-12.
28. Barroso, G., E. Guimarães, C. Ichaso, C. Costa & A. Peixoto (1978) "*Sistemática das Angiospermas do Brasil*" Edusp, São Paulo, vol. 1.
29. Cronquist, A. (1981) "An integrated system of classification of flowering plants" Ed. Columbia University, New York.
30. Bertrand, A & A. Guillaumin (1952) "*Cacti*" Crosby Lockwood & Son, London.
31. Soffiatti, P. & V. Angyalossy (2003) *Bradleya* **21**: 39-48.
32. Silva, D. & J. Alves (1999) *Boletim de Botânica da USP* **18**: 53-60.
33. Conde, L. (1975) *Ann. MO Bot. Gard.* **62**: 425-73.
34. Arruda, E., Melo-De-Pina, G.F & Alves, M. (2005) *Rev. Brasil. Bot.* **28**: 589-601.
35. Mauseth, J. (2005) *Haseltonia* **11**: 113-25.
36. Gibson, A. & K. Horak (1978) *Ann. MO Bot. Gard.* **65**: 999-1057.
37. Mauseth, J. (1999) *Bradleya* **17**: 27-37.
38. Falkenberg, M.B., R.I. Dos Santos & C.M.O. Simões (1999) *Introdução à análise fitoquímica. En Farmacognosia: da planta ao medicamento* (C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz e P.R. Petrovick, orgs.). Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, Cap. 10, p. 163-80.
39. Garcia, C.M., G.D. Zanetti, A.M. Zago, C.F. Bittencourt & B.M Heinzmann (2004) *Acta Farm. Bonaerense* **23**: 67-70.

September 2nd, 2010

Raquel Medina Martins Necchi
Universidade Federal de Santa Maria (ranecchi@hotmail.com)

Manuscript Identification Number: LAJP 2216-10

Dear author:

I am glad to inform you that your article '**Antiinflammatory activity and biochemical parameters of the ethanol extract of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae)**' by *Raquel M. M. NECCHI, Tiago D. T. MAKI, Gizele S. DO CANTO, Rafael N. MORESCO, Sérgio L. DALMORA, Melânia P. MANFRON* has been accepted for publication in Latin American Journal of Pharmacy. In due moment you will receive the page proof consigning the issue where your article will be included.

Many thanks for your interest in our journal.

Yours sincerely,



Prof. Néstor O. Caffini, Editor
Latin American Journal of Pharmacy
E-mail: caffini@biol.unlp.edu.ar

Antiinflammatory activity and biochemical parameters of the ethanol extract of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae)

Raquel M. M. NECCHI^{1*}, Tiago D. T. MAKI², Gizele S. DO CANTO², Rafael N. MORESCO², Sérgio L.

DALMORA², Melânia P. MANFRON²

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
Universidade Federal de Santa Maria, Prédio 26, Santa Maria, RS, CEP: 97105-900, Brasil.

²Departamento de Farmácia Industrial, Centro de Ciências da Saúde,
Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário,
Prédio 26, Santa Maria, Rio Grande do Sul, CEP 97105-900, Brasil.

ABSTRACT. We evaluated the antiinflammatory activity of ethanol extract of *Nopalea cochenillifera* in a model of induction of granulomatous tissue and the kidney and liver toxicity through serum dosage in rats. During 7 days were administered orally 1,5 ml, 3 times a day, of the ethanol extract of cladodes of *N. cochenillifera*. We used nimesulide 5 mg/kg/day as positive control and 20 % propylene glycol as a negative control. After the treatment period, we assessed the formation of granulomas and the serum levels of AST, ALT, albumin, creatinine and urea in all groups, noting that the animals treated with the extract showed 53,5 % inhibition formation of granulomatous tissue while the positive control group showed 58,5%, confirming a significant antiinflammatory activity. There was not a significant elevation of biochemical markers in relation to negative control.

KEY WORDS: Antiinflammatory, *Nopalea cochenillifera*, granuloma, toxicity

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

INTRODUCTION

The Cactaceae family comprises about 1900 species in 125 genera ¹. *Nopalea cochenillifera* is a shrubby plant, occurs naturally from Mexico to Panama and are adapted in several countries ^{2,3}. This cactus is used in traditional medicine as antiinflammatory, analgesic, diuretic ⁴, and as a hypoglycemic agent ⁵. In vitro studies, *N. cochenillifera* showed strong antibacterial activity ⁶. The cladodes of *N. cochenillifera* have the presence of flavonoids, saponins, tannins and anthraquinones ^{6,7,8}.

The diversity of the numerous chemical agents obtained from plants, such as steroids, the sesquiterpene lactones, flavonoids, coumarins and alkaloids, have demonstrated antiinflammatory activity in several models of inflammation, acting on different mediators ^{9,10,11,12}. The discovery of new effective antiinflammatory drugs is an important source for therapy, since many have undesirable side effects such as kidney and liver disorders ^{13,14,15,16}.

The model of granuloma in rats is used to assess the chronic inflammatory reaction¹⁷. The antiinflammatory substances such as nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) and corticosteroids interfere in the process of granuloma formation by suppressing the initial infiltration of neutrophils¹⁸.

The serum concentration of specific enzymes allows evaluation of renal and hepatic toxicity. Serum aminotransferases are reliable indicators of functional or structural alteration of liver cell and the relationship aspartate aminotransaminase: alanine aminotransferase (AST: ALT) and albumin are useful in diagnosis of liver diseases^{19, 20}. Toxic effects of substances affect all systems and organs, but the liver is more vulnerable because of their functional determinism²¹. Chronic liver diseases can lower serum albumin levels by altering its synthesis, increased degradation or promoting extravascular loss²². Serum albumin is used to calculate the severity of liver failure and has a relatively long half-life (20 days). Their serum levels are normal in acute liver disease^{23, 22}.

Measurements of serum urea and creatinine are screening tests used in assessment of renal function^{24, 25, 26}. The elevation in plasma levels of creatinine and urea were indications of renal overload, acute renal failure or increased protein catabolism²⁷. However, urea is not as specific as creatinine and, alone is not decisive for the assessment of renal function²⁵.

This study aimed to prove antiinflammatory activity of ethanol 70 % extract of *N. cochenillifera* by granuloma test in rats and to evaluate the liver and kidney toxicity through serum aspartate aminotransaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin, creatinine and urea.

MATERIALS AND METHODS

Collection of botanical material and obtain the plant extract

The cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck were collected in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. A sample of the plant material was identified and deposited in the Herbarium of Biology Department of UFSM, as voucher SMDB 11.835. The ethanolic 70 % extract of fresh cladodes of *N. cochenillifera* was obtained by cold maceration and reduced to dry residue.

Animals

Were used male Wistar rats weighing between 180 and 200 g, divided into 3 groups of 6 animals. The rats were kept in a vivarium of the Department of Industrial Pharmacy of UFSM with light and dark cycle of 12 hours and 22 ± 2 ° C, free access to food (standard rodent diet) and water. All procedures were performed according to recommendations of the International Committee for care of animals and in accordance with established national regulations for animal experimentation.

The induction of granulomatous tissue test

In aseptic conditions the animals were anesthetized with ether and cylinders of sterile cotton, weighing 40 mg each, were implanted in the back of each animal according to Meier et al. ²⁸ and Niemegeers et al. ²⁹. The treatment was orally, by gavage, for seven days, administering 1,5 ml of the ethanolic 70 % extract of *N. cochenillifera* at a dose of 200 mg/kg/day, divided into 3 daily doses of 0,5 ml at intervals of 4 hours. As negative control, were used a mixture of propyleneglycol/water (20:80 v/v) and, as positive control, Nimesulide, a nonsteroidal antiinflammatory drug at a dosage 5mg/kg/day administered 2 times a day on the range of 8 hours. On the 8th day, the granulomas were removed and dried in a hot-house at 60 ° C for 24 hours, and after were immediately heavy on analytical scale. The weights of the granulomas were expressed in grams. The inflammatory inhibition, shown in percentage, was calculated by the difference between final and initial cotton heavy of the granulomatous tissue.

Biochemical tests

The biochemical dosages were performed in all rats of the granuloma test. At the end of treatment, were collected 3 ml of blood via cardiac puncture of the test group, negative and positive control. These samples were centrifuged at 2800 rpm for 15 minutes to separate the serum. Serum aspartate aminotransaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin, creatinine and urea were measured in automated Cobas Mira ® (Roche Diagnostics) using conventional kits BIOCLIN ® (Belo Horizonte, MG, Brazil).

Statistical analysis

The results were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). The statistical analysis was performed using Student t test and the results were considered significant when $p < 0,05$.

RESULTS

The treatment of animals during seven days with extracts of *N. cochenillifera* led to a significant reduction in weight of granuloma. In the experiments, the animals treated with nimesulide had $58,55 \pm 1,82$ % inhibition of the inflammatory process and the test group treated with extract of *N. cochenillifera* showed inhibition of $53,49 \pm 6,32$ %, compared to negative control.

Treatment with ethanol extract of *N. cochenillifera* and nimesulide, compared to negative control propylene glycol, found that there were no signs of hepatotoxicity and nephrotoxicity in the doses tested and in evaluated time (table 1).

DISCUSSION

The results of the extract of *N. cochenillifera* and nimesulide were similar, demonstrating that the anti-inflammatory activity of the extract used is significant, justifying the popular use.

The extract obtained by maceration of the flowers of *Arnica montana* 1%, administered orally, showed reduction in the inflammatory process very close to the positive control group betametazona by the method of paw edema in rats ³⁰. The *Arnica* contains active constituents in their extracts as isoquercitrin, quercetol and other flavonoids ^{30,31}.

Extract of *Conocliniopsis prasiifolia* showed antiinflammatory activity in vitro significantly at concentrations of 25 and 50 µg/ml, by the method of inhibiting the degranulation of rat peritoneal neutrophils and attributed to the presence of flavonoids³². In chemical reactions through characterization and histochemistry reactions, the ethanol extract of *N. cochenillifera* indicated the presence of flavonoids ⁸ as flavones, flavanones and flavonols ³³.

Flavonoids are characterized chemically by presenting the core fenilbenzopirane (C₆C₃C₆) and its antiinflammatory activity is due to inhibition of arachidonic acid metabolism involved in the formation of inflammation mediators, prostaglandins and leukotrienes, because the ability to remove free radicals and to chelate divalent cations ^{34,35,36,37}. Flavonoids such as quercetin, fisetin, hipolaetina and myricetin inhibit selectively the enzyme 5-lipoxygenase, also involved in the formation of leukotrienes from arachidonic acid ³⁸. The antiinflammatory activity is attributed to the flavonoids, hesperidin and diosmin, due to inhibition of synthesis of prostaglandins PGE 2 and PGE 2α that are found in almost all cells and tissues and of play important roles as mediating inflammation ^{39,40}.

Silva et al.⁴¹ showed that hydroalcoholic extract of flowers of *Calendula officinalis* used as antiinflammatory and healing, rich in flavonoids, produces increased levels of serum urea and alanine aminotransferase (ALT) in high doses suggesting kidney and liver overloads. According to Guyton ²⁵ and Mitch ²⁶ the level of creatinine is the indicator of renal function. Brito et al.,⁴² studied the effect of Copaiba oil on renal function in rats administering the oil by gavage at doses of 0,06 ml/kg and 0,63 ml/kg for 14 days, founding that there was no change levels of creatinine and urea, concluding that the oil does not alter renal function.

CONCLUSION

The ethanol 70 % extract of cladodes of *N. cochenillifera* administered orally inhibited the formation of granulomatous tissue, confirming antiinflammatory activity, but without signs of nephrotoxicity and hepatotoxicity in the doses tested. Thus, the results instigate new studies with this plant species for the determination of substances present in the extract that contribute to biological activity, but also to understand its mechanism of action and studies using other testing their toxicity looking toward a possible pharmaceutical application.

REFERENCES

1. Areces, A. (2004) “*Cactaceae*”, in “Flowering plants of the Neotropics”, (Smith, S.A.N. Mori, A. Henderson, W.D. Stevenson & S.V. Heald, eds.) Princeton and Oxford University Press, p. 73-76.
2. Barbosa, M., Mayo, S., Castro, A., Freitas, G., Pereira, M., Neto, P. & H. Moreira (1996) “Checklist preliminar das angiospermas” in “Pesquisa botânica nordestina. Progresso e perspectivas”, (E. Sampaio, S. Mayo & M. Barbosa, eds.) Pesquisa SBB, Recife, p. 253-415.
3. Hunt, D., & N. Taylor (1990) *Bradleya* **8**: 85-107.
4. Park, E. H. & M. J. Chun. (2001) *Phytotherapy* **72**: 165-67.
5. Cetto, A. A. & M. Heinrich (2005) *J. Ethnopharmacol.* **99**: 325-48.
6. Gomes-Flores, R., Tamez-Guerra, P., Tamez-Guerra R., Rodriguez-Padilha C., E., Monreal-Cuevas, L.A., Hauad-Marroquim, Cordova-Puente, C. & A. Range-Llanas (2006) *Am. J. Infect. Dis.* **2** (1): 1-8.
7. Torres, T. M., Trejo G.A., Posadas, S.R., Zamora, G.J., C.M., Ichazo, Meave, G.A., Cardoso, S.G. & R.C. Posadas (2001) *Rev. Med.* **39**: 491-99.
8. Necchi, R.M.M., Zanetti, G.D, Maki, T.D. T, Royer, L. A.J., M. P. Manfron (2010) Morphology and Histochemistry of Cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dick (Cactaceae). *Lat. Am. J. Pharm.* **29**: 422-7
9. Wagner, H., (1989) Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity. *Planta Med.*, **55**: 235-41.
10. Recio, M.C., Giner, R.M., Máñez, S. & Ríos, J.L. (1995) Structural requirements for the antiinflammatory activity of natural terpenoids; *Planta Med.* **61**: 182-85.
11. Lyss, G., Schmidt, T.J., Merfort, I. & Pahl, H.L. (1997) Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from *Arnica*, selectively inhibits transcription factor NF- B. *Biol. Chem.* **378**: 951-61.
12. Pelzer, E. I., Guardia, T., Juárez, A. O. & Guerrero, E. (1998) Ácute and chronic antiinflamatory effects of plant flavonoids. *Farmacol.*, **53**: 421-24.
13. Bjorkman, D.J. (1996) Nosteroidal antiinflammatory drug induced gastrointestinal injury; *Am. J. Med.* **101**: 25-32
14. Hessel, G., De Santi Neto, D., & E.F. Collares (1996) Correlation between the severity of acute hepatic necrosis induced by acetaminophen and serum aminotransferase levels in rats fasted and sucrose-fed rats. *Brazilian J Med Biol Res*; **29**: 793-6.
15. Wallace, J.L. (1997) Nonsteroidal antiinflammatory drugs and gastroenteropathy: The second hundred years; *Gastroenterology* **112**: 1000-16.
16. Ulinski, T., Guignonis V., Dunan, O. & A. Bensman (2004) Acute renal failure after treatment with non-steroidal antiinflammatory drugs. *Eur J Pediatr*; **163**: 148-50.
17. Spector, W.G. (1969) *Intern. R. Exp. Phatol.* **8**:1-55.

18. Bailey, P.J. (1982) *Biochem. Pharmacol.* **31**: 1213-8.
19. Bittencourt, P.L. & Da Silva, L.C. (1985) Fígado e drogas. In: Fígado e drogas: compêndio de hepatologia. 2 ed. São Paulo; p 264-85.
20. Andriolo, A. & Borges, D. R. (1989) Enzimologia clínica em doenças do fígado. *Rev Bras Patol Clin.* **25**: 95-8.
21. Mendes, F.T. (1988). Fígado e drogas. In: Dani, R, Castro, LP. *Gastroenterologia clínica*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 80, p. 1035-42.
22. Green, G.B., Harris, I.S., Lin, G.A. & K.C, Moylan (2004) *The Washington Manual of Medicine Therapeutics*, 31ª edição, Lippincott Williams e Wilkins, St. Louis, U.S.A..
23. Pugh, R.N.H., Murray-Lyon, I.M., Dawson, J.L., Pietroni, M.V. & R. Williams (1973) Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg*; **60**: 646-9.
24. Ettinger, S.J. & E.C., Feldman (1997) Sistema Urinário. In: Tratado de Medicina Interna Veterinária. São Paulo: Manole, 4ª ed., 2355-74.
25. Guyton AC. (1997) Tratado de fisiologia médica. 9ª ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan.
26. Mitch, W.E. (2001) Insuficiência renal aguda. In: Gildman L, Bennett JC. Cecil: Tratado de Medicina Interna. 21 ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan.
27. Vijayalakshmi, T., Muthulakshmi, V. & P. Sachdanandam (2000). Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottainei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. *J Ethnopharmacol* **69**: 9-15.
28. Meier, R., Schuler, W., & P. L. Desaulles (1950) Usnic Acid: tumor inhibitor isolated from Lichens. *Experimentia*, v. 6, p. 469-71.
29. Niemegeers, C.J.E., Awouters, F., Lenaerts, F.M. & A.J. Janssey (1975) The activity of suprofen on nystatin-induced paw oedema in rats. *Arzneimittel-Forschung*, v. 23, p. 1516-19.
30. Yui, F.; Linarelli, M.C.B. & P. M., Zelante (1998) Atividade antiinflamatória da Arnica Montana. *Rev. Ciências Médicas*, v.7, n.1, p.21-6.
31. Carvalho, A.C. & L.V., Bonamin (2001) Efeitos da administração da *Arnica montana* (tintura mãe e preparações dinamizadas 6 CH) na atividade de diferentes agentes flogísticos em ratos. *Pesquisa Homeopática*, v. 16, p. 31-43.
32. Silva, M. G., Oliveira F. S., Melo Diniz, M. F. F & Takemura O. S. (2008) Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Conocliniopsis prasiifolia* R.M. King & H. Robinson na resposta celular de neutrófilos. *Rev. Bras. Farmacog.*, 18 (4): 569-72.
33. Háuad-Marroquin, L.A; C. Cordova-Puente; A. Rangel-Llanas; s. García-González; L.R. González; C. Rodríguez-Padilla. (2008). Evolución de los efectos del extracto de *Nopalea cochenillifera* en la actividad antimicrobiana in vitro. *Revista salud Pública y Nutrición* **2**: 123–34.
34. Brody, T. (1994) *Nutritional biochemistry*. Academic Press, San Diego, 658 p.
35. Emin, J.A.S., Oliveira, A.B. & A.J. Lapa (1994) Antiinflammatory activity of hesperidin. *J Pharm Pharmacol* **46**: 118-122.

36. Ferrandiz, M.L. & M.J., Alcaraz (1991). Antiinflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents Actions* **32**: 283-88.
37. Silva, R. R., Oliveira, T. T., Nagem, T.J. & M. A. Leão (2002) Efeito de Flavonóides no Ácido Araquidônico. *Medicina, Ribeirão Preto*, **35**: 127-33, abr./jun.
38. Moroney, M.A , Alcaraz, M. J, Forder, R. A, Carey, F. & J.R.S Hoult (1988) Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharm. Pharmacol.* **40**: 787-92.
39. Korolkovas, A. & J. H. Burckharter (1988). *Química Farmacêutica*, Editora Guanabara Koogan, 783 p.
40. Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L.J.D. & A.K. Singla (2001) Chemistry and Pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother. Res.* **15**: 655-69.
41. Silva, E.J.R., Aguiar, F.J.S., Gonçalves, E.S., Sousa, I.M.V., Dimech, G.S., Fraga, M.C.C.A., Coelho, M.C.O.C., & A.G., Wanderley (2005) Avaliação do tratamento subcrônico com o extrato hidroalcoólico de *Calendula officinalis* L. sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratas Wistar. *Rev. Bras. de Farmacogn.* **5**: 88-93.
42. Brito, M.V.H., Tavares, M.L.B., Moura, L.G.S. & J.T. Lima (2001) Efeito do óleo de copaíba na função renal de ratos. *Rev Para Med.*; **15**: 28-32.

Table 1. Serum albumin, creatinine, urea, AST and ALT (mean \pm SEM) using a Cobas Mira apparatus (Roche) using conventional kits BIOCLIN®.

Dosage	<i>N. cochenillifera</i>	Nimesulide	Propyleneglycol 20 %
	average \pm dp	average \pm dp	average \pm dp
Albumin (g/dL)	3 \pm 0,075	3,7 \pm 0,368	3,8 \pm 0,206
Creatinine (MG/dL)	0,55 \pm 0,020	0,57 \pm 0,050	0,56 \pm 0,047
Urea (mg/dL)	44 \pm 6,081	46,2 \pm 3,952	47,4 \pm 7,451
AST (U/L)	300 \pm 28,463	206 \pm 38,597	293 \pm 41,213
ALT (U/L)	74 \pm 9,621	73 \pm 14,436	74 \pm 12,608

4. DISCUSSÃO GERAL

Os parâmetros morfoanatômicos de um determinado órgão vegetal de importância medicinal, como os cladódios de *N. cochenillifera*, podem ser utilizados como um recurso no controle botânico de qualidade dos mesmos como insumos farmacêuticos. Este fato permite a autenticidade do material vegetal, possibilitando a diferenciação inclusive entre espécies botanicamente muito próximas (DI STASI, 1996; SOUZA E LORENZI, 2005).

Considerando a plasticidade fenotípica de *Nopalea cochenillifera*, os caracteres dos cladódios como o aspecto suculento e plano, a superfície ondulada e glabra, as aréolas pilosas e as espinescências hialinas e retas, são concordantes com Taylor (2004), Barroso, (1978) e Bertrand (1952).

A forma dos artículos e das aréolas, bem como o tipo morfológico dos espinhos, segundo Mauseth (1989) e Barroso (1978), são caracteres morfológicos muito utilizados na identificação de cactáceas. A forma dos artículos é fundamental na caracterização do gênero *Nopalea*, a grande maioria dos outros gêneros de cactáceas apresenta caule colunar ou globoso e poucos gêneros de cactáceas possuem caule plano como ocorre em *Nopalea* (CRONQUIST, 1981; BARROSO, 1978).

As similaridades morfológicas entre os gêneros *Nopalea* e *Opuntia* destacam-se que *N. cochenillifera* difere-se de espécies do gênero *Opuntia* pelos espinhos do tipo gloquídeo, pela forma em geral esférica dos artículos e pela ramificação basal do caule do gênero *Opuntia* (BARROSO et al., 1978; LORENZI E GONÇALVES, 2007).

A forma reta da parede das células epidérmicas dos cladódios de *N. cochenillifera* é uma característica que contrasta com cladódios de outras espécies de cactáceas como *Harrisia adscendens* e *Tacinga palmadora* que apresentam, respectivamente, parede celular sinuosa e ondulada (ARRUDA et al., 2005). Esta característica mostra a importância da variabilidade nos elementos epidérmicos, que podem ser encontrados inclusive no pó da planta na forma de fragmentos. Outra característica relevante para a epiderme é o número de camadas celulares, pois em espécies como *N. auberi* a epiderme é múltipla a diferenciando de *N. cochenillifera* em que esta estrutura é unisseriada (MAUSETH, 2005).

Nopalea cochenillifera apresenta a câmara subestomática grande, células-guarda pequenas e estômato do tipo paralelocítico. O tamanho da câmara subestomática e das células-guarda é uma característica comum dentre as cactáceas, contudo a localização do

estômato em relação à linha das células epidérmicas é variável (ARRUDA et al, 2005; SOFFIATTI E ANGYALOSSY 2003; GIBSON E HORAK 1978). Em *N. cochenillifera* os estômato na mesma linha das células da epiderme, a diferencia de espécies como *Tacinga palmadora*, que apresenta estômatos acima da epiderme (ARRUDA et al., 2005).

O parênquima anular de *N. cochenillifera* a diferencia de outras cactáceas como *Harrisia adscendens* que apresenta colênquima do tipo lamelar e de espécies de *Tacinga* que são do tipo angular (ARRUDA et al., 2005). Todas estas espécies apresentam tecido colenquimático subepidérmico, porém a diferença entre os padrões de espessamento da parede celular, é um caracter útil na diferenciação de *N. cochenillifera* com outras espécies.

As cactáceas apresentam diferenças na quantidade de células do parênquima paliçádico, caracter relevante em *Nopalea*, pois em *N. karwinkianam* possui desenove camadas de parênquima paliçádico (MAUSETH, 2005), enquanto que *N. cochenillifera* apresenta em média oito camadas deste parênquima.

Em *N. cochenillifera* os feixes vasculares de maior tamanho apresentam um tecido especial de reserva de água, denominado parênquima aquífero, em maior proporção do que os elementos de vaso e de fibras do xilema. Esta característica é observada em inúmeras espécies de cactáceas como nos gêneros *Melocactus* e *Tacinga* (SOFFIATTI E ANGYALOSSY 2003; ARRUDA et al., 2005).

As estruturas de mucilagem que ocorrem nos cladódios de *N. cochenillifera* aumentam em número e tamanho na região medular e na região mais próxima aos feixes vasculares. Este caracter a difere de espécies de outras cactáceas, como as do gênero *Tacinga* em que estas estruturas ocorrem apenas associadas aos feixes vasculares (ARRUDA, et al., 2005). As estruturas de mucilagem são mencionadas como um dos caracteres adaptativos das cactáceas ao ambiente xérico, uma vez que estas são metabólitos relacionados ao armazenamento de água (SILVA E ALVES, 1999; DICKSON 2000; SOFFIATTI E ANGYALOSSY 2003). Estas estruturas são consideradas como um caráter útil na separação entre as subfamílias Cactoideae e Opuntioideae de Cactaceae, pois em Cactoideae ocorrem unicamente células mucilaginosas, enquanto que em Opuntioideae ocorrem células e canais secretores de mucilagem (ARRUDA et al., 2005), caracteres observados em *N. cochenillifera*.

A presença de drusas de oxalato de cálcio em *N. cochenillifera* contrasta com os cristais prismáticos encontrados nos cladódios de espécies do gênero *Melocactus*, e também com *Harrisia adscendens* que não apresenta cristais em seus cladódios (ARRUDA et al., 2005).

Na presença de ácido clorídrico concentrado, os flavonóides desenvolvem cor amarela (FALKENBERG et al., 1999) o que foi evidenciado na região hipodérmica dos cladódios de

N. cochenillifera. Este fato vem ao encontro dos estudos de Gomez-Flores et al., (2006) que cita a presença de flavonóides em seus cladódios.

Os flavonóides caracterizam-se quimicamente por apresentarem o núcleo fenilbenzopirano (C₆C₃C₆) e sua atividade antiinflamatória deve-se a inibição do metabolismo do ácido araquidônico envolvido na formação dos mediadores da inflamação, prostaglandinas e leucotrienos, devido à capacidade de remover radicais livres e de quelar cátions divalentes (FERRANDIZ et al., 1991; BRODY, 1994, EMIN et al., 1994; SILVA et al. 2002).

Aos flavonóides como hesperidina e diosmina atribuí-se a inibição da síntese das prostaglandinas PGE2 e PGE2 α que são encontradas em quase todas as células e tecidos, desempenhando importantes funções como mediar à inflamação (KOROLVAS, 1988; GARG et al., 2001).

A atividade antiinflamatória induzida nos ratos Wistar, quando tratados com extrato etanólico de *N. cochenillifera* foi de 53,49% o que demonstrou significância, já que o antiinflamatório nimesulida apresentou 58,55 % de inibição. Esta atividade pode ser atribuída aos flavonóides caracterizados por ensaios histoquímicos (HÁUAD- MARROQUIN, 2008; NECCHI et al., 2010), justificando o uso popular desta planta medicinal.

Silva et al., (2008) através de método de inibição da degranulação dos neutrófilos peritoneais de ratos caracterizou a atividade antiinflamatória para o extrato *Conocliniopsis prasiifolia* de forma significativa nas concentrações de 25 e 50 μ g/ml, atribuindo esta atividade a presença de flavonóides.

O extrato macerado das flores de *Arnica montana* a 1%, administrado via oral, apresentou redução do processo inflamatório muito próximo ao grupo controle positivo betametasona, pelo método de edema de pata em ratos (YUI et al., 1998). A *Arnica* contém nos seus extratos constituintes ativos como isoquercitrina, quercetol, entre outros flavonóides (YUI et al., 1998; CARVALHO, 2001).

Além da comprovação de atividades farmacológicas é essencial o estudo biológico de avaliação toxicológica. A avaliação de ensaios de toxicidade renal e hepática são fundamentais para assegurar o uso farmacológico seguro de um fitoterápico.

Silva et al., (2005) demonstraram que extrato hidroalcoólico das flores de *Calendula officinalis* utilizado como antiinflamatório e cicatrizante, rico em flavonóides, produz o aumento dos níveis séricos de uréia e alanina aminotransferase (ALT) em doses elevadas o que sugere sobrecargas renal e hepática.

O tratamento realizado com extrato etanólico de *N. cochenillifera*, nimesulida e quando comparados ao controle negativo propilenoglicol não induziu a modificações no perfil

bioquímico de AST e ALT e uréia. As duas primeiras enzimas indicam lesão hepática aguda e a segunda pode ser interpretada como sobrecarga renal, porém não é um marcador confiável de função renal, pois sua elevação depende muito de outros fatores, como a alimentação e do estado de hidratação.

De acordo com Guyton e Hall (1997) e Mitch (2001) os níveis de creatinina são indicadores da função renal, e os ratos tratados com extrato etanólico de *N. cochenillifera* apresentaram 0,55 mg/dl, sendo compatível com valores encontrados no grupo controle negativo, indicando ausência de toxicidade renal na dose testada.

Já, para o diagnóstico de hepatopatias, os níveis séricos de aminotransferases, são indicadores confiáveis de alteração funcional ou estrutural da célula hepática, assim como a relação aspartato aminotransaminase:alanina aminotransferase (AST:ALT) (ANDRIOLO, 1989; BITTENCOURT, 1985). Foi possível observar que os ratos tratados com *N. cochenillifera* tiveram as atividades séricas de AST e ALT muito próximas ao grupo controle negativo tratado com propilenigicol:água, o que sugere ausência toxicidade hepática nas doses testadas e no tempo avaliado em ratos wistar.

Os resultados obtidos instigam a realização de novos estudos com esta espécie vegetal para a determinação de substâncias presentes no extrato, as quais contribuem para a atividade biológica, como também para entender seu mecanismo de ação e avaliar através de outros ensaios sua toxicidade, visando uma possível aplicação farmacêutica.

5. CONCLUSÕES

- A forma e a superfície glabra e ondulada dos filocladódios contendo aréolas com três espinhos retos são características morfológicas que identificam e geram autenticidade de *N. cochenillifera*.
- A presença de uma epiderme uniestratificada e persistente, o padrão do espessamento celular do tecido colenquimático, o número de camadas de células do parênquima paliádico e a ocorrência de estômatos paralelocíticos, são marcadores anatômicos significativos de *N. cochenillifera*.
- A forma e a localização das estruturas de mucilagem e dos cristais de oxalato de cálcio são caracteres histoquímicos que distingue *N. cochenillifera* de outras espécies.
- *N. cochenillifera* apresenta atividade antiinflamatória significativa que comprovam um dos seus usos populares.
- *N. cochenillifera* não demonstrou toxicidade hepática em ratos na dose testada e no período avaliado.
- *N. cochenillifera* sugere ausência de toxicidade renal em ratos na dose testada e no período avaliado.

7. REFERÊNCIAS

ADEBAYO, J.O.; YAKUBU, M.T.; EGWIM, E.C.; OWOYELE, V.B.; ENAIBE, BU. Effect of ethanolic extract of *Khaya senegalensis* on some biochemical parameters of rat kidney. **J Ethnopharmacol** 88: 69-72, 2003.

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

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e não específicos que interagem com o DNA: uma introdução 2005. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-29, 2005.

ARRUDA, E.; MELO-DE-PINA, G.F; ALVES, M. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n.3, p. 589-601, 2005.

ASCHWANDEN, C. Herbs for health, but how safe are they? **Bull. W.H.O.** 79: 691-2, 2001.

AZEVEDO, A. P. S. Contribuição ao estudo anatômico histoquímico da espécie *Datura suaveolens* Humb et Bompl. Ex. WILLD. Comparando o perfil fitoquímico de amostras coletada nos meses de março e junho. 1998. 67f. Monografia (Trabalho de Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 1998.

BARBERA, G. História e importância econômica e agroecologia. In: **Agroecologia, cultivo e usos da planta forrageira**. Paraíba: SEBRAE/PB, p. 1-11, 2001.

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

BARBOSA, M.; MAYO, S.; CASTRO, A.; FREITAS, G.; PEREIRA, M.; NETO, P.; H. MOREIRA. "Checklist preliminar das angiospermas" in: **Pesquisa botânica nordestina. Progresso e perspectivas** (E. Sampaio, S. Mayo; M. Barbosa, eds.) Pesquisa SBB, Recife, p. 253-415, 1996.

BARROSO, G.; GUIMARÃES, E.; ICHASO, C.; COSTA, C.; PEIXOTO, A. **Sistemática das Angiospermas do Brasil** . Edusp, São Paulo, v 1, 1978.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO, C. L. F.; GUIMARÃES, E. F.; COSTA, C. G. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2ª ed. Viçosa, 2002.

BARTHLOTT, W. Biogeography and evolution in neo- and paleotropical Rhipsalinae (Cactaceae). **Verhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg** 7: 241-248, 1983.

BARTHLOTT, W. E HUNT, D.R. Cactaceae. In: Kubitzki, K. **The families and genera of vascular plants**. 2: 161-197. Berlin, Springer. 1993.

BANSAL, S.S.; JOSHI, A.; BANSAL, A.K. New dosage formulations for targeted delivery of cyclo-oxygenase-2 inhibitors. *Drugs Aging*, v. 24 (6), p. 441-451, 2007.

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

BITTENCOURT PL, DA SILVA LC. Fígado e drogas. In: Fígado e drogas: compêndio de hepatologia. 2 ed. São Paulo;. p 264-85, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**/ Ministério da Saúde, Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica – Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 60 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRUSCHI, M. L.; FRANCO, S. L.; NOVELLO, C. R. Projeto de manipulação e desenvolvimento de medicamentos e correlatos a base de plantas medicinais na disciplina de farmacotécnica. In: **XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**, Recife, v. 1, 2000.

CARVALHO, A. C.; BONAMIN, L. V. Efeitos da administração da **Arnica montana** (tintura mãe e preparações dinamizadas 6 CH) na atividade de diferentes agentes flogísticos em ratos. **Pesquisa Homeopática**, v. 16, p. 31-43, 2001.

CETTO, A. A.; HEINRICH, M. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes **J. Ethnopharmacology** 99: 325-348, 2005.

CONDE, L. Anatomical comparisons of five species of *Opuntia* (Cactaceae) **Annals of the Missouri Botanical Garden** 62: 425-473, 1975.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e dos exóticos cultivados**. Rio de Janeiro: IBDF, v.6, 1984.

CRAIG, C.R.; STITZEL, R.E. **Farmacologia Moderna com Aplicações clínicas**. 6 ed. R.J Guanabara Koogan., 2005.

CUTTER, E. G. **Anatomia vegetal. Parte II – Órgãos. Experimentos e interpretações** Ed. Rocca, São Paulo, 1987.

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

DALMORA, M.E.A. Interação do piroxicam com microemulsão catiônica e β -ciclodextrina: Formulação *in vitro* e avaliação biológica. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Santa Maria-UFSM, Brasil, 1996.

DICKISON, W. C. **Integrative Plant Anatomy** Harcourt Academic Press, San Diego, 2000.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Antioxidants Properties of Phenolic Compounds. **Revista Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, jan/jun., 2004.

DI ROSA. M.; GIROUD. J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **J Pathol** 104: 15-28, 1971.

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

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

ELISABETSKY,E. **Remédio tem ciência? V Jornada Catarinense e I Jornada Internacional de Plantas Mediciniais. Livro de Resumos**. Joinville, SC, 2006.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Sistema Urinário**. In: Tratado de Medicina Interna Veterinária. São Paulo: Manole, 4a ed., 2355-74, 1997.

FAHN, A. **Plant anatomy** Pergamon Press, Oxford., 1990.

FERNÁNDEZ, M.L.; TREJO, A.; MCNAMARA, D. Pectin Isolated from prickly pear (*Opuntia* sp.) modifies low density lipoprotein metabolism in cholesterol-fed guinea pigs. *Journal of Nutrition*, **120**: 1283–1290, 1990.

FRATI-MUNARI, A.C.; ALTAMIRANO-BUSTAMANTE E.; RODRIGUEZ-BARCENAS N.; ARIZA-ANDRACA R.; LOPEZ LEDESMA R. Hypoglycemic action of *Opuntia streptacantha* Lemaire: study using raw extracts. **Archivos de Investigación Médica**, v. 20, p. 321-325, 1989.

FRATI-MUNARI A.C.; GORDILLO, B.E., ALTAMIRANO, P. Hypoglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lemaire in NIDDM. **Diabetes Care**, 11:63-66, 1988.

FRATI-MUNARI, A.C.; JIMÉNEZ, E.;ARIZA, R.C. Hypoglycemic effect of *Opuntia ficus indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. **Phytotherapy Research** v.4, p. 195 - 197, 1990.

FLORES-FLORES, V.; TEKELENBURG, A. Produção de coranti dacti (*Dacylopius coccus* Costa). In: BARBERA, Guisepe; INGLESE, Paolo (Eds.). Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira. Paraíba: SEBRAE/PB, p.169-186, 2001.

FREEMAN, P.C; MANGAN, F.R.; WATKINS, D.K. A study of the effects of nabumetone: A novel anti-inflammatory drug on cell infiltration in to sterile cotton pellets implanted in rats. **J. Pharm. Pharmacol** 34: 580-583, 1982.

GARCIA, C.M., G.D. ZANETTI, A.M. ZAGO, C.F. BITENCOURT ; B.M HEINZMANN **Lat. Am. J. Pharm.** 23 (1): 67-70, 2004.

GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Tradução de Joel G. Hardman e Lee E. Limbird. 9. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 1996.

GALATI, E.M.; TRIPODO, M.M. ; TROVATO A.; MICELI N.; MONFORTE M.T. Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter Note I: diuretic activity **Journal of Ethnopharmacology**, 79, 17–21, 2002.

GOMES-FLORES, R.; TAMEZ-GUERRA P.; TAMEZ-GUERRA, R.; RODRIGUEZ-PADILHA, C.; MONREAL-CUEVAS, E.; HAUAD-MARROQUIM, L.A.; CORDOVA-PUENTE, C.; RANGE-LLANAS, A. In vitro antibacterial and antifungal activities of *Nopalea cochenillifera* pad extracts. **American journal of infectious diseases**, n. 2, v.1, p. 1-8, 2006.

GRAY, P.A.; WARNER, T.D.; VOJNOVIC, I.; DEL SOLDATO, P.; PARIKH, A.; SCADDING, G.K.; MITCHELL, J.A. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on ciclo-oxygenase and lipoxigenase activity in whole blood from aspirin-sensitive asthmatics vs healthy donors. **British Journal of Pharmacology**. v.137, p.1031-1038, 2002.

GREEN G.B; HARRIS, I.S; LIN, G.A.; MOYLAN, K. C. **The Washington Manual of Medicine Therapeutics**, 31ª edição, Lippincott Williams e Wilkins, St. Louis, U.S.A. (2004)

GRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; SNADER, K.M. Natural products in drug discovery and development. **J. Nat. Prod.** **60**: 52-60, 1997.

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

GULÍAS, A.; ROBLES, G. El nopal en su justa medida. **Cuadernos de Nutrición**, **12**: 42-43. 1989.

HÁUAD-MARROQUIN, L.A; C. CORDOVA-PUENTE; A. RANGEL-LLANAS; S. GARCÍA-GONZÁLEZ; L.R. GONZÁLEZ; C. RODRÍGUEZ-PADILLA. Evolucion de los efectos del extracto de *Nopalea cochenillifera* en la actividad antimicrobiana *in vitro*. **Revista salud Pública y Nutrición**, 2008.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Farmacology and Therapeutics**, 96:67-202, 2002.

HOLLIS, H.; SCHEINVAR, L. **El interesante mundo de las cactáceas**. México: Fondo de Cultura Económica, 235p. 1995.

HUNT, D.; TAYLOR, N. The genera of Cactaceae - Progress Toward Consensus. **Bradleya** v. 8, p. 85- 107, 1990.

IBANÉZ-CAMACHO, R., MECKES-LOZOYA, M. & MELLADO-CAMPOS, V. The hypoglycemic effect of *Opuntia Streptacantha* studied in different animal experimental models. **Journal of Ethnopharmacol**, **7**: 175-181, 1983.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 13ª ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional, 2002.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica** 9ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005.

KONTOGIORGIS, C.A.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.J. Non steroidal anti-inflammatory and anti-allergy agents. *Current Medicinal Chemistry*. v.9, p. 89-98, 2002.

KOROLKOLVAS, A.; BURCKHARTER, J. H. **Química Farmacêutica**, Editora Guanabara Koogan, 783p., 1988.

KUMMER, C.L.; COELHO, T.C. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenases-2 (COX-2): Aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**.v.52:4 p. 498-512, 2002

LANS, C. A. J. Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. **Ethnobiol Ethnomed**. **13**: 2- 45, 2006.

LO, T.N.; ALAMEIDA, A.P.; BEAVEN, M.A. Dextran and carrageenan evoke different inflammatory response in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin. **J Pharmacol Exp Ther** 221: 261-267, 1982.

LOGUERCIO C.; FREDERICO A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic. Biol. Med.*, 34, 1-10, 2003.

LORO, J.F.; DEL RIO, I.; PÉREZ-SANTANA, L. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology** 67- 213–218, 1999.

LORENZI, H.; G. E. GONÇALVES. **Morfologia Vegetal**. Ornografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares. Instituto Plantarum de estudos da flora, São Paulo, 2007.

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

MAIA NETO, A. L. Cultivo e utilização da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill. e *Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) para produção de leite no semi-árido nordestino. Salvador: Universidade Federal da Bahia/Escola de Medicina Veterinária/ Departamento de Produção Animal, 2000. 40 p. (Monografia).

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa - MG: UFV, 2000. 220p.

MAUSETH, J. Comparative structure-function studies within a single strongly dimorphic species, *Melocactus intortus* (Cactaceae). **Bradleya** 7: 1-12., 1989.

MAUSETH, J. Anatomical Features, other than wood, in subfamily Opuntioideae (Cactaceae) **Haseltonia** 11: 113-125, 2005.

MAYUREN, C.; IIAVARAN, R. Anti-inflammatory activity of ethanolic leaf extract from *Adenanthera pavonina* (L.) in rats. 1(2): 125-128, 2009.

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

METCALFE, C.; CHALK, L..**Anatomy of the Dicotyledons**. Claredon Press, Oxford, v. 2., 1950.

MITCH, W.E. Insuficiência renal aguda. IN: GILDMAN, L; BENNETT, J.C. Cecil: **Tratado de Medicina Interna**. 21 ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 2001.

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o laboratório Princípios e Interpretações**. Ed. Educ, 4ª edição, 2003.

NECCHI RMM, ZANETTI GD, MAKI TDT, ROYER LAJ, MANFRON MP. Morphology and histochemistry of cladodes of *Nopalea cochenillifera* (L.) Salm-Dyck (Cactaceae). **Lat. Am. J. Pharm.** 29: 422-427, 2010.

PAOLA, P.D; MAZZON, E.; MUIÀ, C.; GENOVESE, T.; MENEGAZZI, M.; ZAFFINI, R.; SUZUKI, H.; CUZZOCREA, S. Green tea polyphenol extract attenuates lung injury in experimental model carragenan-induced pleurisy in mice. **Respiratory Research**. 29;6(1): 66, 2005.

PARK, E.H.; KAHNG, J.H.; LEE, S.H.; SHIN, K.H. An anti-inflammatory principle from cactus. **Phytotherapy**, v. 72, p. 165-167, 2001.

PELZER, E.I.; GUARDIA, T.; JUÁREZ, A.O.; GUERRERO, E. (Äcute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. **Il Farmaco**, 53: 421-24, 1988.

PERRONE RD, MADIAS NE, LEVEY AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. **Clin Chem**; 38:1933-53, 1992.

PUGH, R.N.H.; MURRAY-LYON, I.M.; DAWSON, J.L.; PIETRONI, M.V.; WILLIAMS, R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. **Br J Surg**; 60:646-9, 1973.

PUPO, S.C.; PÉREZ DAVISON, G.; MARTINEZ-SÁNCHEZ, G.; TAKEMURA, O.S.; SILVA, A.V.; GONÇALVES, G.F.; DELAPORTE, R.H. Avaliação da atividade antiinflamatória crônica do extrato etanólico de *Bouchea fluminensis* (Verbenaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. 27 (3): 364-8, 2008.

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

RAVEL, R. **Laboratório Clínico: Aplicações clínicas dos dados laboratoriais**. 6ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

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

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

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Fundamentos de Robbins: patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

ROCHA, J.L.; FERNANDEZ-ALONSO, J. Acute tubulointerstitial nephritis associated with the selective COX-2 enzyme inhibitors, rofecoxib. **Lancet**; 357: 1946-7, 2001.

ROCHE, M.; RONDEAU, P., Singh, N.R., Tarnus, E., Bourdon, E. The antioxidant properties of serum albumin. **FEBS Letters** 1783–1787, 2008.

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

ROTELLI, A.E.; GUARDIÃ, T.; JUÁREZ, A.O.; ROCHA, N.E.; PELZER, L.E.; Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. **Pharmacological Research**, 48:601-606, 2003.

SÁENZ-HERNÁNDEZ, D. Fabricação de alimentos e obtenção de subprodutos. In: BARBERA, Guiseppe; INGLESE, Paolo (Eds.). Agroecologia, cultivos e usos da palma forrageira. Paraíba: SEBRAE/PB, p.140-146. 2001.

SALT, T.A., TOCKER, J.A., ADLER, J.H. Dominance of 5-sterols in eight species of the Cactaceae. **Phytochemistry** 26:731-733. 1987

SANTOS, F.A.; RAO, V.S. Inflammatory edema induced by 1,8-cineole in the hindpaw of rats: a model for screening antiallergic and anti-inflammatory compounds. **Phytomedicine** 5: 115-119, 1998.

SANTOS, M.C.A. FREITAS, S. DE P. ; AROUCHA, E.M.M.; SANTOS, A.L.A. Anatomia e histoquímica de folhas e raízes de vinca (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don). **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v.8., n.1, 2009.

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

SEDGWICK, A. D.; WILLOUGHBY, D. A. Initiation of the inflammatory response and its preservation. In: BONTA, I. L.; BRAY, M. A.; PARNHAM, M. J. (Eds). **Handbook of inflammation**. New York: Elsevier, v. 5, p. 27-47. 1985.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L.; Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O et.al., **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 2002.

SCHOLZ, E. Pflanzliche Gerbstoffe: Pharmakologie und Toxikologie. Deutsche Apotheker Zeitung, v. 134, n. 34, p.3167-3179, 1994.

SILVA, D.; ALVES, J. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo** 18: 53-60. 1999.

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

SILVA, E.J.R.; AGUIAR F.J.S.; GONÇALVES, E.S.; SOUSA, I.M.V.; DIMECH, G.S.; FRAGA, M.C.C.A.; COELHO, M.C.O.C.; WANDERLEY A.G. Avaliação do tratamento subcrônico com o extrato hidroalcoólico de *Calendula officinalis* L. sobre os parâmetros bioquímicos e hematológicos em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Farmacognosia** n. 15, v.2, p 88-93, 2005.

SILVA, T.M.S.; NASCIMENTO,R.J.B.; BATISTA, M.M.; AGRA, M.F.; CAMARA, C.A. Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 17, p. 35-38. 2007.

SILVA, M. G., OLIVEIRA F. S., MELO DINIZ, M. F. F & TAKEMURA O. S. Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Conocliniopsis prasiifolia* R.M. King & H. Robinson

na resposta celular de neutrófilos. **Revista Brasileira Farmacognosia**, n.18, v. 4, p. 569-572, 2008.

SILVA, M. R. A brief history of inflammation. In: VANE, J. R.; FERREIRA, S. H. (Eds.). **Handbook of Experimental Pharmacology**. New York: Springer-Verlang, v. 50, n. 1, p.6-25. 1978.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004.

SOBREIRA FILHO, M.G. Estudos sobre o aproveitamento da palma no Brasil, especialmente no Nordeste. Recife. pp.37, 1992.

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

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

SOFFIATTI, P.; ANGYALOSSY, V. Stem anatomy of *Cipocereus* (Cactaceae). **Bradleya** v. 21, p. 39-48, 2003.

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

SUYENAGA, E.S.; RECHO, E.; FARIAS, F.M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; CHAVES, C.G.M, HENRIQUES, A.T.; Antiinflammatory investigation os some species of Mikania, **Phytotherapy Research**, 16:519-523, 2002.

SVOBODOVÁ, A.; PSOTOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Natural phenolic in the prevention of UV-induced skin damage. A review. **Biomedical Papers**, 147 (2): 137-45, 2003.

SWINGLE, K.F.; SHIDEMAN, T.E. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agent. **J. Pharmacol. Exp. Ther**, 185: 226-234, 1972.

TERRAZAS, T.; MAUSETH, J.D. **Stem anatomy and morphology**. California University Press, Berkeley, p. 47-60, 2002.

TORRES, T. M.; TREJO, G. A.; POSADAS, S.R.; ZAMORA, G.J.; ICHAZO, C.M.; MEAVES, G.A.; CARDOSO, S.G.; POSADAS, R.C. **Revista Médica**, nº 39, v. 6, p. 491-499, 2001.

TRAVERSA, G.; BIANCHI, C.; DA CAS, R.; ABRAHA, I.; MENNITI-IPPOLITO, F.; VENEGONI, M. Cohort study of hepatotoxicity associated with nimesulide and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **British Medicin Journal**, v. 327, p.901-909, 2004.

ULINSKI T, GUIGONIS V, DUNAN O, BENSMAN A. Acute renal failure after treatment with non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Eur J Pediatr**;163: 148-50, 2004.

VANE, L.R.; BAKHLE, Y.S. BOTTING, R.M. Cyclooxygenases 1 and 2. **Annual Reviews of Pharmacology and Toxicology**, v. 38, p. 97-120, 1998.

VIJAYALAKSHMI, T.; MUTHULAKSHMI, V.; SACHDANANDAM, P. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottainei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. **J Ethnopharmacol** **69**: 9-15, 2000.

VITAGLIONE, P.; MORISCO, F.; CAPORASO, V. Dietary antioxidant compounds and liver health. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, 44, 575-586, 2004.

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

WALSER, M.; Assessing renal function from creatinine measurements in adults with chronic renal failure. **Am J Kidney Dis** 32:23-31, 1998.

WHITTLE, B.J.R. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Fundamental and Pharmacology**. v.17, p. 301-313, 2003.

WILLIAMS, C.A.; HOULT, J.R.S.; HARBORE, J.B., GREENHAM, J., EAGLES, J. A biologically active lipophilic flavonol from *Tanacetum pathenium*. **Phytochemistry**, 38: (1) 267-270, 1995.

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