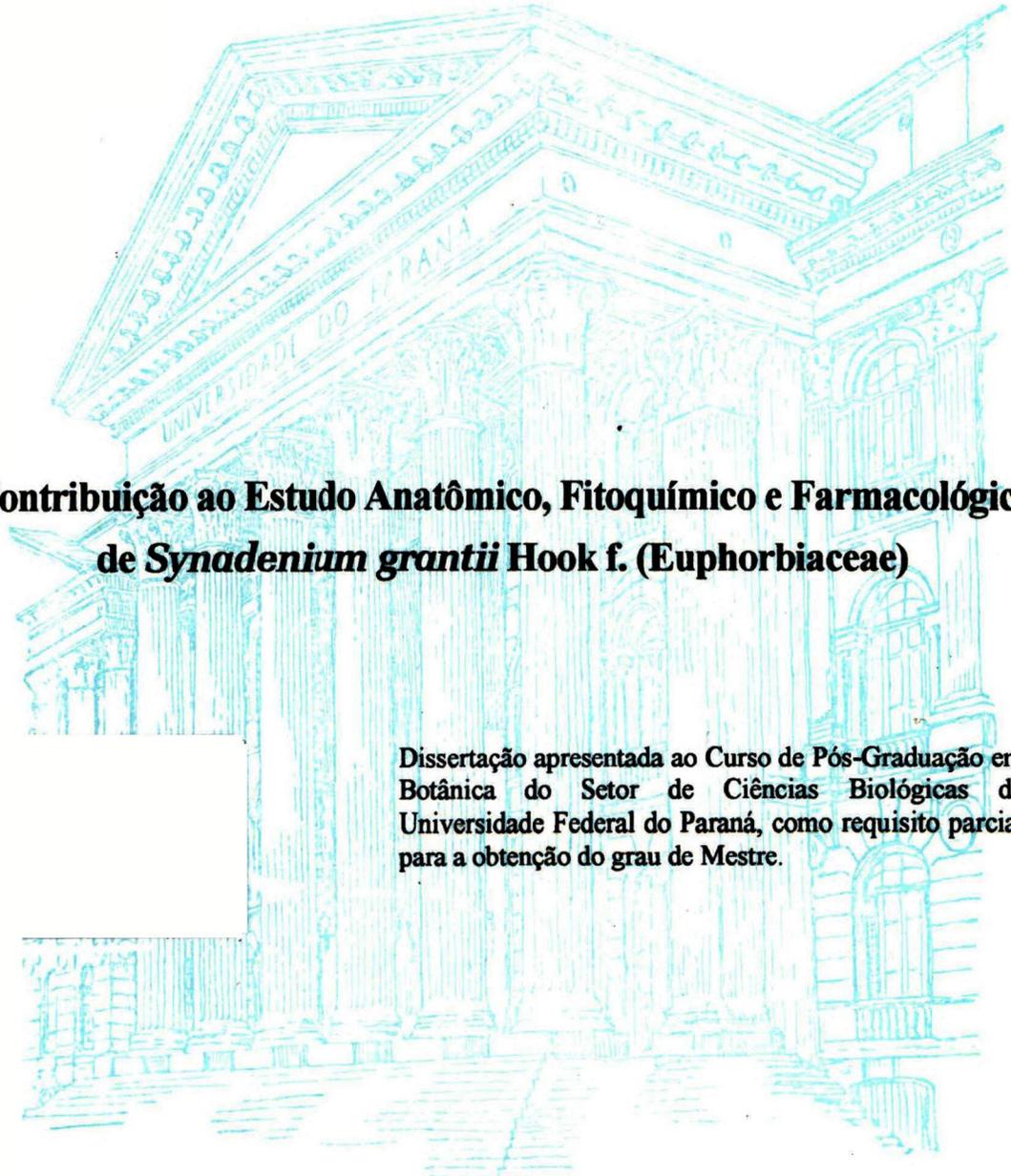


LUCIA REGINA PÉREGO GRUPO



**Contribuição ao Estudo Anatômico, Fitoquímico e Farmacológico  
de *Synadenium grantii* Hook f. (Euphorbiaceae)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

CURITIBA  
1998

LUCIA REGINA PÉREGO GRUPO

**Contribuição ao Estudo Anatômico, Fitoquímico e Farmacológico  
de *Synadenium grantii* Hook f. (Euphorbiaceae)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre.

CURITIBA  
1998

**Orientadora**

Dra. Tomoe Nakashima

**Co-orientador**

Dr. Yedo Alquini



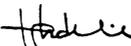
Ministério da Educação e do Desporto  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

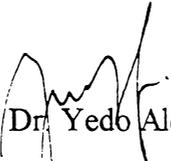
“Contribuição ao estudo Anatômico, Fitoquímico e Farmacológico de *Synadenium grantii* Hook “f” (EUPHORBIACEAE)”.

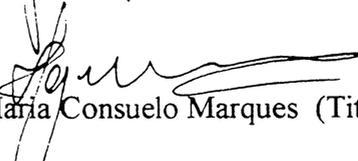
por

**LÚCIA REGINA PEREGO GRUPO**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de mestre no Curso de Pós-Graduação em Botânica, pela Comissão formada pelos Professores:

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tomoe Nakashima (Orientador)

  
Prof. Dr. Yedo Alquini (Titular)

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Consuelo Marques (Titular)

Curitiba, 11 de dezembro de 1998

*Sonhar*  
*Mais um sonho impossível*  
*Lutar*  
*Quando é fácil ceder*  
*Vencer o inimigo invencível*  
*Vegar quando a regra é vender*  
*Sofrer a tortura implacável*  
*Romper a incabível prisão*  
*Voar num limite improvável*  
*Tocar o inacessível chão*  
*É minha lei, é minha questão*  
*Virar esse mundo*  
*Cravar esse chão*  
*Não me importa saber*  
*Se é terrível demais*  
*Quantas guerras terei que vencer*  
*Por um pouco de paz*  
*E amanhã, esse chão que eu beijei*  
*For meu leito e perdão*  
*Vou saber que valeu delirar*  
*E morrer de paixão*  
*E assim, seja lá como for*  
*Vai ter fim a infinita aflição*  
*E o mundo vai ver uma flor*  
*Brotar do impossível chão.*

*(Sonho Impossível - J. Darion e M. Leigh)*

Ao grande amor da minha vida,  
por todo amor, paciência e  
compreensão

Vanderlei Batista Grupo

DEDICO

Dedico este trabalho com  
muito amor e orgulho aos  
meus pais,  
Angelo e Assunta Pérego  
e aos meus irmãos  
Leila e José Luiz, por toda  
lição de vida, apoio,  
colaboração, paciência e  
principalmente pelo amor  
que sempre me dedicaram

Dedico este trabalho com muito  
orgulho, a alguém que me  
ensinou  
a lutar quando é fácil ceder,  
ao meu Mestre  
Marco Antonio Gimenes Basso

## AGRADECIMENTOS

À **Profª Dra. Tomoe Nakashima**, minha orientadora, por toda dedicação, paciência, amizade e como não poderia deixar de ser pela sua valiosa orientação, gostaria de deixar aqui, o meu muito obrigada!

Ao meu co-orientador **Prof. Dr. Yedo Alquini**, pela orientação na parte Botânica deste trabalho, pela sua excelente colaboração enquanto Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Botânica, por me ensinar tudo o que pode sobre anatomia vegetal e principalmente por ser aquele amigo que sempre esteve a disposição quando precisei.

À **Profª Dra. Maria Consuelo Andrade Marques** minha orientadora não oficial, que me acolheu na Farmacologia e me incentivou a desenvolver uma parte muito importante deste trabalho. À sua chefe de equipe **Cristina Setim Freitas** acadêmica do Curso de Biologia, que foi de fundamental importância no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu marido **Vanderlei Batista Grupo**, pela colaboração, paciência e amor que me dedicou durante a confecção deste trabalho, por entender todas as minhas ausências, pois sem o seu sacrificio eu não teria chegado até aqui, obrigada meu amor!

À **Maria Fernanda Rodrigues de Paula**, acadêmica do Curso de Biologia e estagiária na Farmacologia por estar sempre em algum laboratório pronta para me ajudar quando batia o desespero e também por ser esta pessoa tão querida.

Aos Departamentos de Botânica, Farmácia e Farmacologia, por terem aberto as portas para mim sem restrições, obrigada pela confiança!

Gostaria de agradecer ao pessoal do Biotério desta Instituição, em especial ao **Cândido Tomaz Pereira e Izélem A. Ivanoski** que sempre estiveram a disposição nos momentos em que precisei, além da simpatia e do carinho e também a todos os funcionários.

Ao **Nilson Belém Filho**, Técnico do Laboratório de Microtécnica do Departamento de Botânica da UFPR pela sua disposição em me atender sempre que necessário, pelo carinho, amizade e pelas conversas enriquecedoras.

Agradeço aos funcionários do laboratório de Fitoquímica que sempre tiveram muita paciência e sobretudo pela amizade e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à minha amiga **Leila Terezinha Maranhão** pelas alegrias e pelo apoio nas horas difíceis, enfim por tudo que já passamos nesta estrada.

Agradeço aos meus amigos de todas as horas, à **Lenir, Regina, Gracinha, Cíntia, Andréia, Paula, Josimeire, Rosilene, Letícia, Márcia e Cláudio**, amigos estes que ganhei ao longo deste caminho e que me fizeram de uma forma ou de outra sair mais enriquecida.

À **Prof.<sup>a</sup> Dra. Thelma Alvim Veiga Ludwig**, Chefe do Departamento de Botânica, pelo apoio fundamental no desenvolvimento deste trabalho, pelo incentivo e por ser tão amiga.

Ao **Prof. Olavo A. Guimarães**, do Departamento de Botânica pela confirmação do gênero da planta utilizada neste trabalho, pela atenção, por todo carinho e por ser um amigo tão maravilhoso.

Ao **Prof. Dr. Armando Carlos Servi** pela descrição descrição botânica da espécie estudada e por ser aquele amigo querido de todas as horas.

À **Prof.<sup>a</sup> Dra. Margarete Emerich** pela confirmação da espécie utilizada no desenvolvimento deste trabalho e por ter enviado o material necessário para a descrição.

À secretária do Curso de Pós-Graduação em Botânica, **Elisabeth França**, pelo apoio, atenção e principalmente por ser uma amiga tão carinhosa.

A **Prof.<sup>a</sup> Dra. Graciela Ines Bolson de Muñiz**, do Departamento de Engenharia Florestal, por sua colaboração referente ao estudo do lenho do vegetal utilizado neste estudo.

Ao **Prof. Gregório Ceccantini** por me ajudar na descrição e nas fotos do lenho, obrigada pela atenção dispensada, por sempre lembrar de mim e por ser um amigo que sempre pude contar.

À **Silvana Nigoski**, mestranda de Engenharia Florestal, por sua colaboração na rerealização dos estudos anatômicos do lenho.

Ao **Narciso Augusto S. de Castro** do Departamento de Botânica, obrigada por quebrar todos os galhos possíveis e impossíveis e por ser esse amigão tão querido, vou sentir muita falta das nossas longas conversas e das risadas também!

À **Prof.<sup>a</sup> Sionara Eliasaro** do Departamento de Botânica, por estar sempre presente me dando a maior força e por todos os momentos feliz.

Ao meu cunhado **Hamilton de Souza Lima**, por fazer a correção do texto desta dissertação.

Ao **Prof. Dr. James Roper**, pela confecção do abstract deste trabalho.

Ao **Centro de Microscopia Eletrônica** da Universidade Federal do Paraná, pela realização da das fotos de microscopia eletrônica de varredura presentes neste trabalho.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro.

**Universidade Federal do Paraná (UFPR)**, que possibilitou o meu aperfeiçoamento profissional.

Enfim, além do apoio profissional ganhei algo mais, ganhei amigos que pretendo guardar para sempre em meu coração!

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b> .....	xiii
<b>RESUMO</b> .....	xvi
<b>ABSTRACT</b> .....	xvii
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	03
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA EUPHORBIACEAE.....	03
2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GÊNERO <i>Synadenium</i> Boiss.....	07
2.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ESPÉCIE <i>Synadenium grantii</i> Hook f.	10
2.3.1 Posição taxonômica.....	10
2.3.2 Sinônimos.....	10
2.3.3 Fenologia.....	11
2.3.4 Distribuição geográfica no Brasil.....	11
2.3.5 Ecologia.....	11
2.3.6 Etimologia do gênero e espécie.....	11
2.3.7 Nomes populares.....	11
2.3.8 Utilidades.....	11
2.4 REVISÃO SOBRE O TRATO GASTROINTESTINAL.....	12
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	16
3.1 ESTUDOS BOTÂNICOS.....	16
3.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS.....	18
3.2.1 Material vegetal.....	18
3.2.2 Métodos de extração.....	18
3.2.3 Procedimento para preparo dos extratos hidroalcolico e aquoso a 20%.....	18
3.2.4 Triagem do extrato hidroalcolico a 20%.....	18
3.2.4.1 Pesquisa de glicosídeos flavônicos.....	19
3.2.4.2 Pesquisa de esteróides e/ou triterpenos.....	19
3.2.4.3 Pesquisa de alcalóides.....	20
3.2.4.4 Pesquisa de aminogrupos.....	20
3.2.4.5 Pesquisa de glicosídeos antraquinônicos.....	21

3.2.4.6 Pesquisa de cumarinas.....	21
3.2.5 Triagem do extrato aquoso a 20%.....	21
3.2.5.1 Pesquisa de glicosídeos antociânicos.....	22
3.2.5.2 Pesquisa de glicosídeos saponínicos.....	22
3.2.5.3 Pesquisa de glicosídeos cianogenéticos.....	22
3.2.5.4 Pesquisa de taninos.....	23
3.2.5.5 Pesquisa de aminogrupos.....	24
3.2.5.6 Pesquisa de ácidos fixos.....	24
3.2.5.7 Pesquisa de ácidos voláteis.....	25
3.2.6 Determinação do índice de intumescência.....	25
<b>3.3 ESTUDOS FARMACOLÓGICOS.....</b>	<b>26</b>
3.3.1 Material biológico.....	26
3.3.2 Obtenção do extrato e determinação do peso seco.....	26
3.3.3 Concentrações estoque utilizadas.....	27
3.3.4 Dose letal 50% - DL <sub>50</sub> em camundongos.....	27
3.3.5 Teste de atividades gerais em camundongos.....	27
3.3.6 Atividades sobre o trato gastrointestinal.....	28
3.3.6.1 Lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos.....	28
3.3.6.2 Lesões gástricas induzidas por estresse em ratos.....	29
3.3.6.3 Lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.....	29
3.3.6.4 Estudo da secreção gástrica (H <sup>+</sup> e pepsinas) em ratos.....	29
3.3.6.5 Determinação da acidez do conteúdo gástrico em ratos.....	30
3.3.6.6 Determinação da atividade péptica do suco gástrico em ratos.....	30
3.3.6.7 Tratamento crônico - 15 dias em ratos.....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>32</b>
4.1 ESTUDOS BOTÂNICOS.....	32
4.1.1 Descrição de <i>Synadenium grantii</i> Hook f.....	32
4.1.2 Morfologia da folha.....	32
4.1.3 Anatomia da folha.....	33
4.1.4 Laticíferos.....	36
4.1.5 Anatomia do lenho.....	37

4.1.5.1	Descrição macroscópica.....	38
4.1.5.2	Descrição microscópica.....	38
4.2	ESTUDOS FITOQUÍMICOS.....	49
4.2.1	Triagem fitoquímica.....	49
4.2.2	Índice de intumescência.....	50
4.3	ESTUDOS FARMACOLÓGICOS.....	53
4.3.1	Dose Letal 50% (DL <sub>50</sub> ) em camundongos.....	53
4.3.2	Teste de atividades gerais em camundongos.....	53
4.3.3	Efeito do extrato bruto aquoso de <i>S. grantii</i> (EBS) sobre lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.....	55
4.3.4	Efeito do EBS sobre lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos.....	56
4.3.5	Efeito do EBS sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos.....	57
4.3.6	Efeito do EBS sobre a secreção ácida gástrica em ratos piloro-ligado.....	57
4.3.7	Efeito do EBS no tratamento crônico realizado durante 15 dias em ratos.....	58
5	<b>CONCLUSÕES</b> .....	65
	<b>ANEXO 1 - Tabelas de resultados farmacológicos</b> .....	67
	<b>ANEXO 2 - Sais, reagentes, solventes e equipamentos</b> .....	70
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	73

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

01 Vista geral do hábito de <i>Synadenium grantii</i> Hook f. (Euphorbiaceae), Goioerê, Paraná, Brasil.....	41
02 Ramos férteis, destacando a disposição das inflorescências.....	41
03 Detalhe de um ramo fértil.....	41
04 Inflorescência em detalhe.....	41
05 Ramo revelando folhas com filotaxia alterna e venação reticulada.....	42
06 Detalhe de venação reticulada do tipo camptódroma eucamptódroma.....	42
07 Em detalhe um ciátio contendo um fruto.....	42
08 Detalhe da face adaxial, evidenciando cera epicuticular (Microscopia eletrônica de varredura - M.E.V.).....	43
09 Detalhe da face abaxial, destacando cera epicuticular (M.E.V.).....	43
10 e 11 Bordo foliar da face adaxial revelando tricomas tectores (M.E.V.).....	43
12 Bordo foliar da face abaxial apresentando tricomas tectores (M.E.V.).....	43
13 Detalhe de tricoma da figura anterior (M.E.V.).....	43
14 Vista frontal da epiderme da face adaxial, destacando estômato paracítico (Microscopia fotônica - M.F.).....	44
15 Epiderme da face abaxial em vista frontal, mostrando estômato paracítico (M.F.)....	44
16 Secção transversal do mesofilo, com face adaxial em detalhe (M.F.).....	44
17 Mesofilo em secção transversal, destacando a face abaxial (M.F.).....	44
18 Secção transversal da lâmina foliar, destacando um laticífero (M.F.).....	44
19 Vista geral da nervura central em secção transversal (M.F.).....	44
20 Nervura central em secção transversal, destacando a ocorrência de compostos fenólicos (M.F.).....	44
21 Pormenor da nervura central em secção transversal, evidenciando a ocorrência de laticíferos (M. F.).....	44
22 Detalhe de parte do feixe vascular principal em secção transversal. Laticíferos (M.F.).....	44
23 Detalhe de primórdio foliar de gema apical em secção longitudinal, destacando o início de formação dos laticíferos (M.F.) .....	45

24	Detalhe dos laticíferos da fig. anterior, evidenciando células sofrendo lise (M.F.).....	45
25	Laticíferos em todos os sentidos e direções, em primórdio foliar seccionado longitudinalmente (M.F.).....	45
26 e 27	Laticíferos associados às nervuras em folhas jovens de ápice caulinar em secção longitudinal (M.F.).....	45
28	Secção longitudinal da lâmina foliar de folha adulta, destacando a distribuição dos laticíferos (M.F.).....	45
29	Aspectos do lenho, em secção transversal (M.F.).....	46
30	Vasos múltiplos em disposição radial em secção transversal (M.F.).....	46
31	Detalhe da placa de perfuração simples em elemento de vaso (M.F.).....	46
32	Fibras, evidenciando espessamento terciário de celulose gelatinosa em secção transversal (M.F.).....	46
33	- Elementos de vaso com placa de perfuração simples e células do raio quadradas e eretas em seção longitudinal radial (M.F.).....	46
34	Detalhe de células do raio, destacando pontoações radiovasculares arredondadas a horizontais em secção longitudinal radial (M.F.).....	46
35	Canais secretores em secção longitudinal radial (M.F.).....	46
36	Pontoações intervasculares escalariformes, raios parenquimáticos unisseriados, fibras septadas e canais secretores secção longitudinal tangencial (M.F.).....	47
37	Detalhe de canal radial em secção longitudinal tangencial (M.F.).....	47
38	Detalhe de canal radial em seção longitudinal radial (M.F.).....	47
39	Pontoações intervasculares escalariformes em detalhe, em seção longitudinal tangencial (M.F.).....	47
40	Detalhe de uma célula perfurada de raio em secção longitudinal tangencial (M.F.)...	47
41	Traqueíde em material dissociado.....	48
42	Detalhe de traqueíde, mostrando pontoações areoladas arredondadas (M.F.).....	48
43	Fibrotraqueíde em material dissociado (M.F.).....	48
44	Fibrotraqueíde destacando pontoações areoladas com abertura alongada em material dissociado (M.F.).....	48
45	Fibra septada em material dissociado (M.F.).....	48
46	Detalhe da fig. anterior (M.F.).....	48

47 e 48 Elementos de vaso em material dissociado (M.F.).....	48
49 Ensaio preliminares realizados com o látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de <i>S. grantii</i> .....	50
50 Investigação química preliminar realizada com o extrato aquoso a 20% do látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de <i>S. grantii</i> .....	51
51 Investigação química preliminar realizada com o extrato hidroalcolico a 20% do látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de <i>S. grantii</i> .....	52
52 Efeito do extrato aquoso bruto do látex de <i>S. grantii</i> (EBS) administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por etanol 70% em ratos.....	60
53 Efeito do EBS administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina 10mg/kg - <u>sc</u> em ratos.....	61
54 Efeito do EBS administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos.....	62
55 Efeito do EBS sobre o volume total da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos.....	63
56 Efeito do EBS sobre os níveis de pH da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos.....	63
57 Efeito do EBS sobre acidez total da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos.....	63
58 Efeito do EBS sobre a atividade péptica da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos.....	64
59 Efeito do EBS administrado durante 15 dias pela via oral em ratos.....	64

## RESUMO

No presente estudo foi analisada a espécie *Synadenium grantii* Hook f. (EUPHORBIACEAE) enfocando três aspectos: botânico (estrutural), fitoquímico e farmacológico. Dentre os aspectos estruturais relevantes, destaca-se a presença de laticíferos articulados, além de fibras septadas no lenho. Os demais aspectos botânicos analisados coincidem com os já descritos para a família. Os estudos fitoquímicos revelam no látex: taninos condensados e hidrolisáveis; glicosídeos flavônicos; esteróides e/ou triterpenos; nas folhas: glicosídeos flavônicos; esteróides e/ou triterpenos; nas cascas de caule: taninos condensados e hidrolisáveis; esteróides e/ou triterpenos; raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; cascas e raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; esteróides e ou/triterpenos. Quanto aos aspectos farmacológicos o extrato bruto aquoso do látex de *S. grantii* (EBS) apresenta baixa letalidade em camundongos. O EBS protege a mucosa gástrica de ratos contra os efeitos lesivos do etanol (proteção mecânica), mas potencializa os efeitos lesivos dos antiinflamatórios não esteroidais (indometacina) e do estresse, além de provocar lesões leves na mucosa de animais submetidos a tratamento crônico (15 dias). Estes resultados indicam que os testes realizados não permitem a validação da utilização popular do extrato bruto aquoso do látex deste vegetal como antiulcerogênico.

## ABSTRACT

In this study *Synadenium grantii* Hook f. (EUPHORBIACEAE) was analyzed focusing on three aspects: structural, phytochemical and pharmacological. Among the relevant structural aspects were the presence of articulated laticifers and fibers non-septate in the wood. Other structural aspects were typical of those already described for this plant family. Phytochemical study revealed the following chemicals in various compartments of the plants. In latex: both condensed and hydrolyzable tannins, flavonic glycosides, steroids and triterpenes. In leaves: flavonic glycosides, steroids and triterpenes. In root bark: both condensed and hydrolyzable tannins, steroids and triterpenes. In roots: both condensed and hydrolyzable tannins, steroids and triterpenes. Among the pharmacological aspects of the gross soluble latex extract (EBS) was low toxicity in mice. The mucosa of rats was protected by EBS against lesion caused by ethanol (mechanical protection). However, EBS exacerbates the lesions caused by stress and by non-steroidal anti-inflammatories (indometacine). Also, EBS causes light lesions in the mucosa of animals submitted to chronic (15 days) treatment. These results indicate do not support the popular use of the gross soluble latex extract (EBS) of this plant as an anti-ulcerative.

## 1 INTRODUÇÃO

Uma estreita relação entre o homem e as plantas consideradas curativas sempre existiu nas várias fases de desenvolvimento das civilizações. Provavelmente a tendência em utilizar as plantas para o tratamento dos seus males é inata no homem, como em outros animais. Estudos realizados na Tanzânia, com chimpanzés, verificaram que esses primatas deglutem em jejum folhas de certas plantas que os livram de vermes intestinais. Arqueólogos encontraram em túmulos pré-históricos sementes de plantas tidas como medicinais. Até hoje os povos primitivos mantêm curandeiros cujas práticas envolvem manipulação de plantas ou produtos derivados de vegetais. Nos dias atuais assiste-se ao fenômeno surpreendente, mesmo nas populações mais industrializadas que é a intensificação do uso de plantas para fins medicinais. Este fato pode ser explicado em parte por questões de ordem sócio-econômica, e pelo desconhecimento científico (GOTTLEB e KAPLAN, 1993).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população faz uso de algum tipo de planta em busca do alívio para sintomas dolorosos ou desconfortáveis (MARTINS, 1995).

A validação de plantas tidas como medicinais se faz necessária, pois estes vegetais apresentam um alto poder terapêutico conhecido pelo povo. No entanto, sua utilização é realizada sem qualquer embasamento científico ou apenas com base em estudos realizados na década de 50, os quais precisam ser reavaliados. Para a confirmação das ações referidas popularmente e para conhecer a toxicidade e efeitos colaterais dos produtos naturais utilizados como medicinais, é necessária a extração química biomonitorada por testes farmacológicos, a realização de testes de toxicidade pré-clínica e a identificação da estrutura química responsável pela ação farmacológica. Uma vez esclarecido o mecanismo de ação, a realização de alterações estruturais do composto, procurando aumentar sua eficácia e reduzir a incidência e gravidade de efeitos colaterais, se fazem necessárias.

A espécie *Synadenium grantii* Hook f. pertencente a família Euphorbiaceae, é nativa da África e cultivada no Brasil como planta ornamental.

Na África e Índia é utilizada como cerca-viva onde há criação de gado, devido ao látex leitoso que este vegetal produz e que ao entrar em contato com a pele do animal causa freqüentes injúrias, produzindo desde ardência e vermelhidão a queimaduras com formação

de bolhas na pele, além de edema nas mucosas e olhos (KINGHORN, 1980; BAGAVATHI *et al.*, 1988). RUSSEL (1997), relata que *S. grantii* é altamente tóxica, podendo ser fatal se ingerida.

Este vegetal tornou-se objeto do presente estudo porque seu látex vem sendo utilizado popularmente no tratamento de infecções de garganta, gastrite, úlcera, diabete e principalmente câncer. Na Índia é utilizada popularmente como analgésico (BAGAVATHI *et al.*, 1988).

Como a população ingere de maneira acentuada e indiscriminada o látex de *S. grantii* diluído em água, para a cura de seus males, tornou-se urgente a realização de testes farmacológicos para determinar a presença ou não de toxicidade e a veracidade dos efeitos antiulcerogênicos relatados pelo uso popular.

A literatura pertinente ao assunto, praticamente nada menciona em relação aos estudos anatômicos de *S. grantii*. A anatomia vegetal fornece bons subsídios quanto a distribuição das estruturas responsáveis pela biosíntese dos metabólitos secundários, além de auxiliar no controle de qualidade, sem menosprezar um excelente suporte que pode ser utilizado na taxonomia. A interação da abordagem anatômica do vegetal, com o estudo fitoquímico e farmacológico, preenchem aspectos relevantes para vários campos da Ciência.

Este vegetal apresenta extensa aplicação na medicina tradicional possuindo portanto, amplos aspectos a serem estudados, pois são poucos os trabalhos existentes na literatura em relação ao potencial que esta espécie aparenta ter.

Tendo em vista o acima exposto, o presente trabalho tem por objetivos:

- Analisar a organização estrutural dos órgãos vegetativos, em estágio primário e secundário (folhas e caule) de *Synadenium grantii* Hook f.;
- Realizar testes qualitativos dos metabólitos secundários presentes neste vegetal;
- Determinar a toxicidade aguda (DL<sub>50</sub>) do extrato bruto aquoso do látex de *S. grantii* (EBS);
- Conhecer as ações gerais promovidas pelo EBS;
- Validar através de modelos farmacológicos de indução de lesões gástricas, os possíveis efeitos do EBS sobre a mucosa gástrica;
- Avaliar se o EBS provoca alterações na secreção gástrica.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA EUPHORBIACEAE

Compreende esta família, uma das maiores entre as Magnoliopsida, com cerca de 290 gêneros e aproximadamente 7.500 espécies, distribuídas em todas as regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre, principalmente nas regiões das Américas e na África. Esta família se encontra muito bem representada na flora brasileira. No Brasil ocorrem 72 gêneros e 1.100 espécies de hábito e “habitat” diversos, difundidos em todos os tipos de vegetação (BARROSO, 1991). Os gêneros que mais possuem espécies são: *Euphorbia* (mais de 1.500), *Croton* (700), *Phyllanthus* (400) *Acalypha* (400), *Macaranga* (250), *Antidesma* (150), *Drypetes* (150), *Tragia* (150), *Jatropha* (150) e *Manihot* (150), (CRONQUIST, 1981).

Os representantes desta família apresentam grande diversidade morfológica, são compostos por árvores, arbustos, subarbustos, ervas, algumas vezes lianas, freqüentemente suculentas com hábitos semelhantes aos cactos, que nas regiões secas da África, tem o mesmo papel dos cactos na América (CRONQUIST, 1981; LAWRENCE, 1951; WEBERLING e SCHWANTES, 1986).

RIZK (1987), comenta que desde a antigüidade efeitos curativos tem sido atribuídos para muitas espécies da família Euphorbiaceae. A espécie *Euphorbia fisheriana* tem sido utilizada na Medicina Tradicional Chinesa, há mais de 2.000 anos como droga antitumoral, *apud* Schroeder *et al.* (1980). Plantas desta família tem sido usadas no tratamento de câncer, tumores e verrugas muito antes de Hipócrates (cerca de 400 a.C.), e referências sobre suas aplicações tem aparecido na literatura de muitos países *apud* Kupchan *et al.* (1976). Certas espécies tem sido descritas nas farmacopéias homeopáticas, como *Acalypha indica*, *apud* Nahrshedt *et al.* (1982). O autor cita ainda que espécies de Euphorbiaceae são utilizadas por populações de muitos países na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças como vermífugo, antibiótico, antitumoral, diabetes, afrodisíaca, diurética, doenças oftálmicas, gonorréia, sífilis, reumatismo, lepra, etc.

Muitas espécies de Euphorbiaceae são conhecidas por conter irritativos da pele e princípios carcinogênicos, na forma de ésteres estruturalmente relatados de diterpenos tiglane, ingenane e daphane (UZABAKILIHU *et al.*, 1987; BAGAVATHI *et al.*, 1988).

TREASE e EVANS (1989), citam que algumas espécies desta família apresentam látex, podendo este ser leitoso ou incolor, e às vezes venenoso, irritante ou icotóxico. Alguns membros como *Manihot esculentus* (variedade amarga) contém heterosídeos cianogénicos (ácido prússico).

Apesar disso, um número completo de espécies desta família são utilizados na medicina popular como material na preparação medicinal para feridas ou inflamações, na agricultura, na horticultura e como recurso alternativo na indústria (BAGAVATHI *et al.*, 1988).

CRONQUIST (1981), relata que os membros desta família são quimicamente diversos, produzindo látex, taninos, diterpenos, óleos essenciais e diversos tipos de alcalóides.

RIZK (1987), através de uma revisão química de diferentes classes de compostos isolados desta família, relata que mais de 120 espécies têm sido investigadas. Entre as substâncias identificadas estão diterpenóides e triterpenóides, esteróides, álcoois e hidrocarbonos; compostos fenólicos como flavonóides, lignanas, cumarinas, taninos, fenantrenos, quinonas, ácidos fenólicos, alcalóides, glicosídeos cianogénicos e glicosinolatos. Segundo o autor, estes compostos fazem parte das principais classes de substâncias de interesse fitoquímico, além da importância econômica desta família, como medicinal e industrial.

Segundo SCHULTES (1987), cientistas têm demonstrado grande interesse nas substâncias tóxicas encontradas nos representantes da família Euphorbiaceae, tais como, ésteres de diterpeno alcóolico, forbol, resiniferol e ingenol, que apresentam irritativos da pele e atividades indutoras de tumores. O autor cita ainda que mais de 100 compostos identificados como diterpenos alcóolicos são conhecidos em 13 gêneros estando entre eles *Croton*, *Euphorbia* e *Synadenium*. Ainda neste trabalho, o autor comenta que a biodinâmica desta família pode ser apreciada por estudos etnofarmacológicos realizados durante 40 anos em regiões da Índia e Amazônia, como por exemplo *Alchornea* (antidiarreico), *Chamaesyce* (antimicótico - pé-de-atleta), *Croton* (assepsia e cura de inflamações e feridas da pele, furúnculos, além de antiulcerogênico), *Micandra* (icotóxico), *Euphorbia* (propriedades purgativas), *Plyllanthus* (repelente contra insetos), entre outros.

Quanto à atividade antiulcerogênica os pesquisadores HIRUMA-LIMA *et al.* (1998), realizaram estudos com cascas de *Croton cajucara* (Euphorbiaceae). Esta espécie é utilizada na região Amazônica para o tratamento de distúrbios no trato gastrointestinal. Neste

trabalho foram utilizados diferentes doses do óleo essencial (50, 100 e 200 mg/kg) presente nas cascas. O óleo essencial foi testado em quatro modelos de úlcera (estresse por imobilização e frio, indometacina, etanol e ligadura do piloro) em ratos. Os resultados demonstraram que o óleo essencial das cascas deste vegetal apresentam atividade antiulcerogênica frente aos modelos utilizados, e que os dados obtidos suportam o uso popular da espécie no tratamento de úlceras em geral.

HIRUMA-LIMA *et al.* (1998), dando continuidade a pesquisa com *C. cajucara*, avaliaram os possíveis mecanismos de ação antiulcerogênica do óleo essencial desta espécie. Os autores utilizaram o óleo essencial das cascas de *C. cajucara* (100 mg/kg) nos modelos de determinação da secreção gástrica em ratos e camundongos (administração via oral e intraduodenal), dosagem dos níveis de prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>) da mucosa de rato e tratamento de lesões crônicas induzidas por ácido acético em estômagos de ratos. Estes estudos indicaram que o tratamento com o óleo pela via oral, aumentou o volume do suco gástrico produzido, porém a administração do óleo via intraduodenal alterou efetivamente o pH, volume e a acidez total. O óleo essencial aumentou significativamente a síntese de PGE<sub>2</sub> da mucosa de ratos. O tratamento crônico (100 mg/kg/diária/14 dias) produziu uma taxa de cura de 32,3% contra 32,2% produzido pela cimetidina na mesma dose. Os resultados deste trabalho indicaram que o efeito curativo é atribuído a liberação de PGE<sub>2</sub>, que ativa os fatores de proteção da mucosa gástrica.

Quanto a anatomia geral da família Euphorbiaceae, a clássica obra de METCALFE e CHALK (1965), relata que a estrutura anatômica exibe uma grande variação relacionada com a diversidade de “habitat” presente nesta família. Segundo os autores as folhas apresentam mesofilo dorsiventral. Os tricomas são muito diversos incluindo os tipos glandulares e tectores. Algumas das células epidérmicas podem ser esclerificadas, mucilaginosas, silicificadas, ou papilosas em diferentes gêneros e espécies. Ocorrem vários tipos de estômatos, de distribuição também variável. Os feixes vasculares são freqüentemente do tipo colateral. Ocorrem cristais, na maioria solitários ou agregados, mas podem ocorrer tipos especiais como esferítes e estilóides. Elementos secretores de vários tipos são comuns nesta família. Estruturas que secretam látex apresentam formas de tubos, células ou sacos, além de idioblastos portadores de compostos fenólicos, e outros tipos de materiais secretados em elementos similares ou em cavidades intercelulares. Estruturas anômalas ocorrem em poucos gêneros.

Em relação à anatomia do lenho na família Euphorbiaceae RECORD e HESS (1972), citam que o lenho apresenta poros múltiplos, tendendo a disposição radial. Vasos apresentam placas de perfuração simples e pontoações alternas. Raios finos e inconspícuos, freqüentemente unisseriados. O parênquima do lenho é reticulado, ou em linhas concêntricas, ou em bandas, mas raramente visíveis a olho nu e freqüentemente difíceis de serem visualizados claramente mesmo com a utilização de lentes. As fibras são freqüentemente muito longas, raramente septadas, estas últimas com paredes gelatinosas, apresentando pontoações usualmente areoladas. Grandes canais radiais ocorrem em vários gêneros como em certas Apocynaceae. Cristais são freqüentemente abundantes nos raios ou no parênquima do lenho, e ocasionalmente em ambos.

Segundo MENNEGA (1987), são características do lenho da família Euphorbiaceae, ausência de placa de perfuração escalariforme nos vasos; presença de pontoações intervasculares médias a grandes, e pontoações radiovasculares semelhantes; presença de parênquima apotraqueal difuso ou em faixas; raios heterocelulares; fibras com paredes finas e ausência de fibras septadas.

WEBSTER (1975), implantou um novo sistema de classificação na família Euphorbiaceae, abrangendo cinco subfamílias e cinquenta tribos. Neste sistema, o autor adicionou para a subfamília Euphorbioideae, tribo Euphorbieae e subtribo Euphorbiinae os gêneros *Chamaesyce*, *Cubanthus*, *Endadenium*, *Monadenium*, *Pedilanthus* e *Synadenium*, por apresentarem laticíferos não articulados (raramente ausentes), contendo látex esbranquiçado, freqüentemente cáustico ou tóxico, entre outras características relevantes na taxonomia.

Doze anos mais tarde WEBSTER (1987), comenta que apesar dos 150 anos de estudos entre a relação intrafamiliar nas Euphorbiaceae, seguindo o trabalho pioneiro de *apud* Jussieu (1824), as subfamílias e tribos de Euphorbiaceae, não estão até o momento satisfatoriamente definidas. Ainda nesta publicação, o autor cita seu próprio sistema de classificação realizado em 1975, enfatizando a necessidade de estudos anatômicos e mais detalhes morfológicos, que ainda são escassos para muitos gêneros, tornando-se estritamente necessários, antes que a classificação desta família possa ser considerada segura.

Segundo RUDALL (1987), dentro da família Euphorbiaceae, ocorrem laticíferos em muitos gêneros, mas apesar da grande quantidade de referências sobre este assunto nesta família, muitos destes trabalhos estão concentrados na importância econômica, e

freqüentemente em gêneros altamente especializados, particularmente em *Euphorbia* e *Hevea*, demonstrando que a evolução nesta família é ainda pouco compreendida. A autora comenta que são relativamente pouco conhecidos os laticíferos de outras Euphorbiaceae, muitos dos quais ainda permanecem inexplorados. Entretanto, as investigações têm sofrido uma confusão de terminologias e interpretações sobre os tipos de laticíferos, resultando em freqüente negligência em alguns trabalhos anteriores.

MAHLBERG *et al.* (1987), cita que o sistema de Webster (1975), inclui a presença ou ausência de laticíferos, a coloração do látex, entre outros caracteres para agrupar cinco subfamílias de Euphorbiaceae, entretanto, este sistema não utiliza os caracteres dos laticíferos na distinção entre os diferentes grupos. Segundo o autor, os laticíferos apresentam aspectos químicos e morfológicos com aplicação potencial como caracteres taxonômicos para auxiliar na delimitação das espécies e para interpretar as tendências evolutivas da família Euphorbiaceae. O autor relata ainda que as características dos laticíferos, utilizadas juntamente com estruturas morfológicas relevantes poderão aumentar a introspecção sobre as relações filogenéticas desta família.

## 2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GÊNERO *Synadenium* Boiss

A literatura a respeito da anatomia do gênero *Synadenium* é escassa. Os autores se referem a trabalhos que na maioria são relativos à morfologia externa ou aos laticíferos presentes neste gênero, sempre relacionados à taxonomia.

BIESBOR e MAHLBERG (1981), relatam que após examinar os grãos de amido do látex nos gêneros da família Euphorbiaceae, somente considerou pertencente a tribo Euphorbieae os gêneros portadores de grãos de amido ocorrentes no látex. Incluem nesta tribo, *Pedilanthus*, *Monadenium* e *Synadenium*, os quais tem em comum com as *Euphorbia* suculentas grãos de amido osteóides, ausência de anatomia Kranz e metabolismo ácido crassulaceo (CAM).

RUDALL (1987), analisou uma considerável amostra de gêneros da família Euphorbiaceae, onde são investigados a morfologia e distribuição dos laticíferos, além de suplementar esta informação com uma revisão da literatura já existente. De acordo com a autora, na classificação de PAX e HOFFMANN (1931), o gênero *Synadenium* Boiss pertence à subfamília Crotonoideae e tribo Euphorbieae, por apresentar laticíferos não articulados, *apud* Solereder (1908); Biesbor e Mahlberg (1981). A autora comenta ainda

sobre o sistema de classificação de WEBSTER (1975), onde os gêneros *Chamaesyce*, *Cubanthus*, *Endadenium*, *Monadenium*, *Pedilanthus* e *Synadenium*, foram transferidos para a subfamília Euphorbioideae, tribo Euphorbieae e subtribo Euphorbiinae, por apresentarem laticíferos não articulados (raramente ausentes), contendo látex esbranquiçado, freqüentemente cáustico ou tóxico, entre outras características relevantes na taxonomia

Em relação aos estudos fitoquímicos, BOMBARDELLI *et al.* (1974), isolaram três flavonóides das folhas de *Synadenium carinatum* Boiss, os quais foram caracterizados por luz ultravioleta (U.V.) e por espectro de ressonância magnética (N.M.R.). Sendo identificados como 3-O-rhamnosilkaempferol (I); 3-O-glucosil kaempferol (II); e 3-O-galactosil kaempferol (III).

Segundo KINGHORN (1980), *Synadenium grantii* Hook f. é um membro do pequeno gênero de 15 espécies nativas do Oeste da África, e desenvolvido na Europa e América do Norte como planta ornamental. O autor realizou estudos para determinar se os efeitos toxicológicos do látex deste vegetal são devido a constituintes do éster forbol, uma vez que muitos representantes desta classe de diterpenóides irritativos e promotores de tumor tem sido estabelecidos e relatados no gênero *Euphorbia*. Um estudo prévio de *S. grantii* detectou eufol, tirucalol, euforbol e um isômero de lanosterol, embora estes fitosteróis não produzem efeitos irritativos na pele. Ainda neste trabalho, foi isolado do látex de *S. grantii* um novo produto irritativo natural, 12-O-tigloil-4-deoxiforbol-13-isobutirato. O éster 4-deoxiforbol parece ser raro no reino vegetal, tendo sido descrito anteriormente apenas em *E. tirucalli* e *E. biglandulosa*.

PREMARATNA *et al.* (1981), isolou e purificou lecitina presente no látex de *S. grantii*. O autor afirma que as lecitinas são proteínas ou glicoproteínas com importante atividade biológica. A rápida aglutinação de células malignas pelas lecitinas, tem se mostrado útil no estudo das mudanças que as células normais sofrem quando se tornam malignas. As lecitinas estimulam a divisão dos linfócitos e, portanto, parecem ser o maior instrumento na análise de cromossomos. A capacidade da lecitina para ligar células estranhas tem conduzido para o uso nos estudos imunológicos. A lecitina presente no látex de *S. grantii* foi identificada como galactose. A purificação se deu pela precipitação da acetona seguida por afinidade em coluna cromatográfica. A ocorrência da lecitina no látex mostrou ser muito maior que as encontradas no exudato do floema. A lecitina pura encontrada no extrato aquoso correspondeu a 38% do total de proteínas.

Segundo UZABAKILIHU *et al.* (1987), são duas as principais características para estudos do látex de Euphorbiaceae. Primeiro alguns látices contém irritativos da pele e diterpenos derivativos carcinogênicos, especialmente ésteres de forbol. Segundo sua distribuição, os triterpenóides comprovam ser úteis na taxonomia. Nesta pesquisa os estudos do extrato acetônico de *S. grantii* indicaram que triterpenóides são os maiores constituintes. Em adição, vários grupos de produtos foram identificados, incluindo n-alcanos com uma distribuição rara, gorduras, ácidos aromáticos e ionol.

Apesar da população utilizar o extrato proveniente do látex de *Synadenium grantii*, para curar males como úlcera, infecções da garganta, diabete e principalmente câncer, poucos trabalhos relacionados as ações farmacológicas desta espécie são descritos na literatura.

UNNIKRISHNAN *et al.* (1987), em estudos preliminares demonstraram que o extrato etanólico de *S. grantii* produz de forma dose dependente, hipotermia reversível em camundongos e coelhos. O aspecto mais notável do extrato é sua potência mesmo no estado bruto. Em doses baixas (1 mg/kg) o extrato produz uma queda na temperatura retal de cerca de 1°C. Todas as doses testadas (1,0; 1,5; 10 e 20 mg/kg) induziram a um significativo declínio na temperatura dos animais tratados. O pico máximo foi alcançado uma hora após a administração do extrato, e mantido por várias horas antes da recuperação dos animais.

Dando continuidade às pesquisas UNNIKRISHNAN *et al.* (1988), verificaram que o extrato etanólico do látex injetado em cachorros anestesiados em baixas doses (0,1 - 0,4 mg/kg) manteve um pequeno, mas suportável aumento na pressão sangüínea, acompanhada por diurese. Entretanto, altas doses (0,6 - 1,0 mg/kg) induziram a uma severa e fatal queda na pressão sangüínea acompanhada por vários efeitos na respiração, redução na liberação urinária, e além disso, o animal mostrou sintomas de edema pulmonar. Uma vagotomia bilateral foi efetuada para restaurar a pressão sangüínea, equilibrando as condições críticas.

BAGAVATHI *et al.* (1988), citam que *S. grantii* foi introduzida na Índia no começo deste século, sendo utilizada principalmente como cerca-viva e que em alguns vilarejos é muito comumente usada como analgésico. Foram isolados do látex deste vegetal cinco diterpenos, 12,13-diésteres do tipo tigliane originado dos álcoois 4-deoxiforbol (I); 4,20-dideoxi-5 $\alpha$ -hidroxiforbol (II); e 20-deoxi-5 $\alpha$ -hidroxiforbol (III), por métodos cromatográficos utilizando ácido isobutírico, tíglico e fenilacético.

Segundo HERMANSSON *et al.* (1990), o extrato dos ramos e folhas juntamente com o látex de *Synadenium pereskifolium* é utilizado na medicina tradicional no Kenia, para o tratamento de ataque asmático. Durante o fracionamento do extrato aquoso, o ácido 1,2-0- $\beta$ -D-glucopiranosil-L-málico revelou ser o principal composto do extrato desta planta. Este porém, não apresentou atividade em íleo de porco, mas nunca foi encontrado em plantas superiores.

## 2.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A ESPÉCIE *Synadenium grantii* Hook f.

### 2.3.1 Posição taxonômica

Segundo WEBSTER (1975):

Família: Euphorbiaceae

Subfamília: Euphorbioideae

Tribo: Euphorbieae

Subtribo: Euphorbiinae

Gênero: *Synadenium*

Segundo CRONQUIST (1981):

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Rosidae

Ordem: Euphorbiales

Família: Euphorbiaceae

Gênero: *Synadenium*

Espécie: *Synadenium grantii* Hook f.

### 2.3.2 Sinônimos

*Synadenium umbellatum* Pax in Engl. Bot. Jahrb 19:125. 1894. Type Tanzania. Maswa District Simia R., Leg. Fischer 517 (Holotype B (destruído) parte do Holotype K).

*Synadenium umbellatum* Pax var. *puberulum* N.E. Brown in Fl. Trop. Afr. 6(1):1911. Type: Tanzania, Mwanza District, Ukerewe, Multanga. Leg. Conrad 166 (Holotype B (destruído) parte do Holotype K; Isotype EA).

### 2.3.3 Fenologia

No Paraná floresce de maio a junho e a frutificação ocorre de junho a setembro.

### 2.3.4 Distribuição geográfica no Brasil

Planta nativa da África e introduzida no Brasil. Ocorre no Paraná e Mato Grosso.

### 2.3.5 Ecologia

No Paraná *Synadenium grantii* ocorre preferencialmente em locais cuja temperatura seja elevada. Desenvolve-se muito bem em terrenos baldios ou terrenos abandonados depois de cultivado.

### 2.3.6 Etimologia do gênero e espécie

*Synadenium* em alusão às glândulas concrecidas e *grantii* em homenagem a seu coletor Capitão Grant Milkbush.

### 2.3.7 Nomes populares

Leitosa-do-amazonas, cega-olho e cola-nota.

### 2.3.8 Utilidades

Utilizada como cerca-viva em locais onde há criação de gado, como ornamental em jardins e para fins medicinais.

## 2.4 REVISÃO SOBRE O TRATO GASTROINTESTINAL

O aparelho digestivo é revestido por mucosa constituída pelas camadas epitelial, lâmina própria e muscular. O epitélio é a camada de células especializadas que mantém contato com o lúmen do trato gastrointestinal. A lâmina própria é formada por um tecido conjuntivo contendo colágeno e fibras de elastina, além de apresentar grande quantidade de vários tipos de glândulas e conter nódulos linfáticos e capilares (BERNE e LEWI, 1996). A submucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo rico em vasos sanguíneos e linfáticos, em algumas regiões estão presentes glândulas submucosas, contendo o Plexo de Meissner (submucoso). A camada muscular é formada por fibras musculares lisas, circulares e longitudinais, onde encontra-se o Plexo Auerbach (mioentérico). A camada serosa é constituída por tecido conjuntivo frouxo e células do mesotélio. As contrações da musculatura externa homogeneizam o conteúdo circulante no lúmen e o impulsionam ao longo do trato gastrointestinal (BERNE e LEWI, 1996).

Segundo RANG e DALE (1997), os plexos interconectados e suas células ganglionares recebem do vago fibras parassimpáticas pré-ganglionares essencialmente colinérgicas, que na maior parte são excitatórias, apesar de algumas serem inibitórias. As fibras simpáticas que chegam são essencialmente pós-ganglionares e, além de inervarem diretamente os vasos sanguíneos, o músculo liso e algumas células glandulares, podem apresentar terminações nos plexos no ponto em que inibem a secreção da acetilcolina. Os neurônios dos plexos que constituem o Sistema Nervoso Entérico (SNE), além de acetilcolina e noradrenalina, secretam, purinas, óxido nítrico e uma ampla variedade de peptídeos farmacologicamente ativos.

Os mecanismos de defesa da mucosa gástrica estão relacionados com a permeabilidade da membrana e da junção intracelular que funcionam como barreira protetora, impedindo a passagem dos agentes lesivos encontrados no estômago. A proteção pré-epitelial se dá pela secreção de muco e de bicarbonato; a epitelial através da hidrofobicidade da membrana das células luminiais, compostos sulfidrílicos, prostaglandinas e restituição celular e a subepitelial ocorre pela manutenção do fluxo sanguíneo e do balanço ácido-básico (GLAVIN *et al.*, 1992).

As prostaglandinas agem diminuindo a acidez e o volume da secreção gástrica. São vasodilatadoras e regulam o fluxo sanguíneo na mucosa, aumentam a secreção de muco no

estômago e inibem a lesão gástrica causada por vários agentes ulcerogênicos, promovendo a cicatrização de úlceras duodenais e estomacais (GOODMAN e GILMAN'S, 1996).

Segundo SZABO (1991), a lesão celular ou tecidual da mucosa gástrica pode ocorrer por causas adquiridas ou inatas. As cinco causas mais comuns de lesão celular ou tecidual são: hipoxia, agentes químicos e biológicos, fatores físicos e defeitos genéticos. A hipoxia resulta da diminuição do fluxo sanguíneo ou do decréscimo da hemoglobina (carreadora de O<sub>2</sub>) ou ainda da diminuição das enzimas oxidativas dos tecidos. Já os agentes químicos englobam monoaminas, eiconosóides, endotelinas, drogas sintéticas, poluentes do meio, venenos e principalmente substâncias químicas ingeridas propositadamente como café, etanol, tabaco e outros componentes do fumo. Entre os agentes biológicos encontram-se vírus, bactérias, fungos, parasitas e as reações imunológicas que geralmente são desenvolvidas para a defesa do organismo. A excessiva produção de radicais livres tóxicos ou reações raras como anfilaxia e doenças autoimunes, também contribuem para a injúria tecidual.

MARSHALL (1983), sugeriu que a infecção bacteriana por *Helicobacter pylori*, ocasionava o desenvolvimento da úlcera gastroduodenal, mas estudos posteriores demonstraram que a bactéria tem ocorrência apenas oportunista. MALFERTHERINER e DITCHUNEIT (1990), demonstraram que a erradicação da bactéria reduz a incidência de úlceras recorrentes.

O etanol é um agente químico de ação direta, necrosante da mucosa gástrica que danifica a barreira de muco e inibe o transporte ativo de íons (HIRSCHOWITZ, 1983). A utilização de álcool a longo prazo causa reação inflamatória crônica induzindo lesões pela sua capacidade de produzir um aumento da permeabilidade vascular (GOODMAN e GILMAN'S, 1996), evidenciando a importância do fluxo sanguíneo e da microcirculação na manutenção da integridade da mucosa gástrica (SZABO, 1991).

Segundo SZABO *et al.* (1986), os antiinflamatórios não esteroidais (NSAIDs) como a indometacina, inibem a síntese de prostaglandinas através de bloqueio da ciclooxigenase do tipo 2 (COX<sub>2</sub>).

Outro mecanismo capaz de provocar lesões na mucosa gástrica através da utilização de NSAIDs é denominado de íon capturado, resultado da dissociação do ácido NSAID no meio intracelular das células da mucosa. Na forma de íons os NSAIDs são solúveis em água e são capturados para dentro das células, criando um gradiente de concentração a favor da movimentação de dissociação de íons em ácidos fracos dentro da mucosa gástrica,

resultando em alterações da permeabilidade celular devido ao influxo de íons  $H^+$  no lúmen gástrico (GLAVIN *et al.*, 1992).

O estresse psicoemocional associado ou não a outros fatores físicos, pode alterar as funções do hipotálamo, que controlam a fisiologia do sistema autônomo e endócrino, através de alterações do sistema límbico (KITAGAWA *et al.*, 1979), resultando em distúrbios na motilidade gastrointestinal (GOLDMAN e ROSOFF, 1968), no aumento dos níveis circulantes de glicocorticóides, catecolaminas e histamina e também em distúrbios da microcirculação e conseqüente isquemia da mucosa gástrica (PACHALY *et al.*, 1993). Estas alterações interdependentes diminuem a vitalidade da mucosa, produzindo erosões, necroses, sangramentos e úlceras gástricas (JENNEWEIN e HAMMER, 1980).

A regulação da secreção gástrica ocorre pelas vias neural, parácrina e hormonal. A estimulação do nervo vago (parassimpático) promove a liberação de um neurotransmissor (acetilcolina), que é um agonista de receptores muscarínicos, atuando sobre a regulação da secreção gástrica por três vias: a) estimulando os receptores muscarínicos do tipo  $M_1$  presentes nas células secretoras de histamina; b) estimulando os receptores do tipo  $M_3$  presentes na célula parietal e c) inibindo os receptores muscarínicos  $M_2$  ou  $M_4$  (?) nas células secretoras de somatostatina. A interação da acetilcolina com esses receptores leva ao aumento da liberação de ácido clorídrico (HCl) através da ativação da bomba de prótons presente na célula parietal. A liberação de histamina (hormônio) estimula o receptor histaminérgico do tipo  $H_2$  da célula parietal, aumentando os níveis de AMPc, que é o segundo mensageiro deste receptor, ativando a bomba de próton liberando íons  $H^+$  no lúmen do estômago (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990). Porém a estimulação da célula parietal pela histamina produz um aumento transitório de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) intracelular, sendo que este mecanismo ainda não está bem determinado (CHEW, 1983). A gastrina atua sobre os receptores do tipo colecistoquinina (CCK-B), presentes nas células parietais e nas células liberadoras de histamina chegando até elas através da circulação sanguínea. A gastrina aumenta a liberação de ácido através da mobilização de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) intracelular, quando há estimulação do receptor CCK-B da célula parietal e através da liberação de histamina quando há estimulação deste receptor (CCK-B) na célula secretora de histamina e o conseqüente aumento do AMPc intracelular. A somatostatina liberada atua sobre os receptores específicos presentes na célula parietal, diminuindo os níveis de AMPc e conseqüentemente a atividade da bomba de prótons (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990). A liberação da histamina promovida pela gastrina é inibida por concentrações fisiológicas

de somatostatina (CHEW, 1983). A somatostatina também diminui diretamente a atividade da bomba de prótons através de um mecanismo desconhecido (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990).

A  $H^+/K^+$ ATPase é a molécula alvo para a classe de fármacos antissecretores chamados de inibidores da bomba de prótons. Localizada na membrana da célula parietal, mantém em equilíbrio a quantidade de  $K^+$  intracelular e  $H^+$  extracelular, por transporte ativo. Simultaneamente e coordenado pela troca de  $H^+$  e  $K^+$  ocorre a abertura de canais  $K^+$  e  $Cl^-$  formando o HCl (RABON e REUBEN, 1990). De acordo com SEDERBERG *et al.* (1989), a liberação ácida é controlada pela ação da gastrina, histamina e neurotransmissores colinérgicos (acetilcolina), além de peptídeos.

GOODMAN e GILMAN'S (1996), comentam que os antagonistas de receptores da histamina ( $H_2$ ), tais como a Cimetidina e a Ranitidina são os produtos mais utilizados atualmente e que trazem maior benefício terapêutico, embora promovam vários efeitos colaterais importantes. Os antagonistas de receptores muscarínicos ( $M_3$ ), como a Pirenzepina não são utilizados com frequência. Sua aplicação restringe-se a casos muito específicos e na maioria das vezes é evitado totalmente devido ao grande número de efeitos sistêmicos indesejados. Os bloqueadores da bomba  $H^+/K^+$ ATPase, recentemente introduzidos no mercado, têm sido utilizados indiscriminadamente, levando a casos de acloridria importantes. Os derivados ou análogos de prostaglandinas, como o Misoprostol, têm efeito terapêutico valioso, mas sua utilização como abortivo, impediu a sua livre comercialização. Vários tipos de antiácidos não sistêmicos, como o Hidróxido de Alumínio, podem promover um desequilíbrio ácido-básico pela não utilização do equivalente ácido carbônico, além de produzirem diarreia ou constipação e vários outros efeitos colaterais. Estes antiácidos trazem, portanto, poucos benefícios clínicos que muitas vezes se resumem apenas ao alívio passageiro da dor.

Nenhum dos produtos disponíveis no mercado atualmente, é suficientemente eficaz no tratamento das úlceras estomacais. Na maioria das vezes, são apenas paliativos da dor, além de causarem inúmeros efeitos colaterais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ESTUDOS BOTÂNICOS

As coletas da espécie *S. grantii* foram efetuadas no Município de Goioerê - Paraná. O material botânico utilizado para o estudo anatômico consta de gemas apicais, folhas e lenho. As exsiccatas do material fértil foram depositadas e registradas no Herbário (UPCB) do Departamento de Botânica do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, sob o número 31108.

Para análise da anatomia foliar foram utilizados dois fixadores, F.A.A. (formol, ácido acético e álcool etílico) e Karnovski. Após a coleta, as amostras foram fixadas em F.A.A. 70% por 48 horas, em seguida, transferidas e conservadas em álcool 70% (JOHANSEN, 1940). Já no fixador Karnovski, o material permaneceu por 24 horas, e então foi transferido para álcool 70% para a devida conservação.

No estudo da organização estrutural em microscopia fotônica foram confeccionadas lâminas semi-permanentes e permanentes.

Para montagem das lâminas semi-permanentes, foram efetuadas secções paradérmicas de folhas à mão livre. As secções foram depositadas em água destilada e posteriormente clarificadas com hipoclorito de sódio a 20%. Em seguida foram lavadas em água destilada duas vezes, passadas rapidamente em água acidulada para neutralização do pH, novamente lavadas em água destilada e coradas com safranina. Para a montagem das lâminas utilizou-se glicerina 50% (BERLYN e MIRSKE, 1970), e esmalte incolor para lutagem.

As técnicas de dissociação de tecidos e diafanização foram utilizadas respectivamente para separação dos elementos de vaso do caule e para evidenciar o padrão de venação foliar (FRANKLIN, 1946; FOSTER, 1949).

Foram realizados testes microquímicos para comprovação de compostos fenólicos em folhas (HADDAD, 1989).

Para a obtenção de secções mais precisas das folhas, as amostras foram emblocadas em glicol metacrilato (GMA) JB4 (Polysciences. Inc.) de acordo com as especificações do fabricante e de FELDER e O'BRIEN (1968). Após o emblocamento, o material foi seccionado em micrótopo rotativo, com espessura de 9 a 13 $\mu$ m. Em seguida as secções

foram distendidas sobre lâminas, coradas com azul de toluidina (HADDAD, 1989), utilizando-se “Entellan e/ou Permout” como meio de montagem.

Para a confecção das lâminas permanentes da madeira (material fresco), as amostras foram fervidas para retirada de ar do seu interior e para amolecimento. Foram utilizados três blocos de cada amostra, orientados nos planos transversal, longitudinal radial e longitudinal tangencial. As amostras foram seccionadas em micrótomo de deslizamento, obtendo-se secções isoladas de 20 a 26  $\mu\text{m}$  de espessura. Foi utilizada para coloração Safrablau (safranina 30% e azul de astra 70%) solução alcóolico-etílica 95%. As secções coradas foram desidratadas em série alcóolico-etílica ascendente, álcool etílico 95%, álcool etílico absoluto (2 vezes) e xilol. Para montagem do material foi utilizado “Entellan”.

Os valores da frequência dos vasos ( $n^0$  vasos /  $\text{mm}^2$ ), bem como os diâmetros tangenciais dos mesmos foram aferidos em material seccionado transversalmente. O número de células por raio, bem como a altura dos mesmos foram medidos em secção longitudinal tangencial. Os valores dimensionais das fibras, foram aferidos em material dissociado. Foram escolhidos aleatoriamente para aferição 25 de cada um dos elementos citados acima. Os valores foram obtidos pela realização de média aritmética.

Para análise em microscopia eletrônica de varredura, as amostras previamente fixadas, sofreram desidratação em série alcóolico-etílica passando por álcool 90% (1 hora), 100% (2 horas) e novamente 100% (2 horas). O material foi então desidratado através de ponto crítico com  $\text{CO}_2$  (SILVEIRA, 1989) e metalizado com ouro (ROESER, 1972).

As fotomicrografias foram realizadas em Microscópio Eletrônico de Varredura e Fotomicroscópio de luz. As escalas foram projetadas nas mesmas condições ópticas.

## 3.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS

### 3.2.1 Material vegetal

As coletas da espécie *S. grantii* foram realizadas no Município de Goioerê - Paraná. Para realização da triagem fitoquímica utilizou-se folhas, caule, raiz e suas respectivas cascas, previamente secos e estabilizados em estufa com circulação de ar a 40<sup>o</sup>C, e material a fresco para extração do látex.

### 3.2.2 Métodos de extração (PRISTA, 1991)

Para determinação dos metabólitos secundários, os extratos hidroalcoólico e aquoso, foram preparados a 20%, através do método de maceração. Neste método de extração, a droga e o solvente são postos em contato durante certo tempo, obtendo-se deste modo, uma solução extrativa designada por macerado. Os solventes, normalmente utilizados são água e misturas hidroalcoólicas.

### 3.2.3 Procedimento para preparo dos extratos hidroalcoólico e aquoso a 20% (MOREIRA, 1979 modificado por NAKASHIMA, 1993)

Pesou-se 30 g de cada parte do vegetal previamente seca e triturada. Passou-se cada parte do vegetal para um recipiente e adicionou-se o líquido extrator (etanol a 70% ou água deionizada) em quantidade suficiente para cobri-la. Tampou-se o recipiente, deixando a matéria vegetal macerando por 7 dias, no caso do extrato alcoólico e por 2 horas em banho-maria para o extrato aquoso. Após o período estipulado, filtrou-se o macerado com auxílio de funil, através de papel de filtro, para uma proveta graduada, até obter um volume de 150 mL do extrato.

### 3.2.4 Triagem do extrato hidroalcoólico a 20%

Observou-se e determinou-se: cor, odor, sabor e pH.

### 3.2.4.1 Pesquisa de glicosídeos flavônicos (Reação de Shinoda ou Cianidina)

Foram agitados 15 mL do extrato alcóolico com 5 mL de éter de petróleo em um tubo de ensaio. Deixou-se em repouso, separou-se a camada etérea com auxílio de uma pipeta. A solução restante foi extraída com 15 mL de clorofórmio, até remover-se toda a clorofila. Evaporou-se o resto da solução até secura. Dissolveu-se o resíduo com 3 mL de metanol e realizou-se os seguintes testes:

Adicionou-se em 1 mL da solução final 50 mg de limalha de magnésio, mais 0,5 mL de ácido clorídrico (HCl) fumegante (reação exotérmica). O aparecimento de coloração rósea a vermelha indicam reação positiva.

Evaporou-se até secura, em um tubo de ensaio 1 mL da solução final, ao resíduo adicionou-se 5 gotas de acetona e 30 mg de ácido bórico e ácido oxálico e agitou-se bem.

Evaporou-se novamente à secura, adicionou-se ao resíduo 10 mL de éter etílico, e agitou-se novamente. Em seguida, examinou-se a solução etérea sob luz ultravioleta (U.V.). O aparecimento de fluorescência indica reação positiva.

### 3.2.4.2 Pesquisa de esteróides e/ou triterpenos

Evaporou-se à secura, 20 mL do extrato alcoólico. Dissolveu-se o resíduo com 5 mL de clorofórmio, filtrou-se, e completou-se o volume do filtrado para 5 mL (equivalente a 4 g do material vegetal original).

Em três tubos de ensaio pipetou-se respectivamente 0,1; 0,25 e 0,5 mL da solução acima, completou-se o volume para 2 mL com clorofórmio, adicionou-se 1 mL de anidrido acético e 2 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo de ensaio (reação de Liebermann-Bouchardt). Reação efetuada em capela. A formação de uma coloração rósea ou azul-esverdeada indica a presença de esteróides e/ou triterpenos.

Interpretação:

Extrato	CHCl	Volume total	Resultado
0,1 mL	1,9 mL	2,0 mL	+++
0,5 mL	1,5 mL	2,0 mL	++
1,0 mL	1,0 mL	2,0 mL	+

### 3.2.4.3 Pesquisa de alcalóides

Evaporou-se 20 mL do extrato alcoólico até securo, e tratou-se o resíduo com gotas de hidróxido de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) até pH 8-10, e adicionou-se 10 mL de água destilada. Agitou-se a solução com 10 mL de clorofórmio; transvasou-se a camada clorofórmica para um tubo de ensaio com 10 mL de ácido clorídrico (HCl) a 1%. Agitou-se e separou-se a solução ácida com o auxílio de uma pipeta.

Realizou-se os seguintes testes com os reativos gerais:

- a) Em 1 mL da solução ácida, adicionou-se 3 a 5 gotas do reativo de Mayer. A formação de precipitado branco, indica a presença de alcalóides;
- b) Em 1 mL da solução ácida, adicionou-se 3 gotas do reativo de Dragendorff. A formação de precipitado alaranjado acusa a presença de alcalóides;
- c) Em 1 mL da solução ácida, adicionou-se 3 gotas do reativo de Bertrand. A formação de precipitado branco, indica a presença de alcalóides;
- d) Em 1 mL da solução ácida, adicionou-se 3 gotas de reativo de Bouchardat. A formação de precipitado vermelho-tijolo (alaranjado) acusa a presença de alcalóides.

No caso da reação ser positiva, a reação é confirmada adicionando-se à solução ácida, solução alcoólica de ácido tartárico a 5%, gota a gota (máximo 2 mL).

Obs: O ácido deve dissolver o complexo alcaloídico formado.

### 3.2.4.4 Pesquisa de aminogrupos

Concentrou-se 10 mL do extrato alcoólico em banho-maria (BM). Efetuou-se duas manchas com o extrato concentrado em papel de filtro, em pontos previamente determinados (5 gotas do extrato em cada mancha). Deixou-se secar e nebulizou-se uma das manchas com o reativo de Ninhidrina segundo FANNY e col. Aqueceu-se o papel em estufa a  $100^\circ\text{C}$  por 15 minutos. O desenvolvimento de coloração rósea-violácea ou azul-violácea indica a presença de aminogrupos.

Exceção: Prolina e Hidroxi-prolina desenvolvem coloração amarela.

#### 3.2.4.5. Pesquisa de glicosídeos antraquinônicos

Transferiu-se 50 mL do extrato alcoólico para um balão de refluxo, adicionou-se 5 mL da solução aquosa de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) a 10%. Acoplou-se o balão a um condensador e levou-se a refluxo por 30 minutos. Filtrou-se a solução ainda quente em papel de filtro. Adicionou-se 30 mL de água destilada e transferiu-se para um funil de separação e extraiu-se com 15 mL de diclorometano ( $CH_2Cl_2$ ). Separou-se a camada orgânica em um tubo de ensaio e efetuou-se a reação de Borntrægger, através da adição de 5 mL de hidróxido de amônio ( $NH_4OH$ ) SR. Agitou-se lentamente. O desenvolvimento de coloração rósea, indica a presença de antraquinonas.

Obs.: Se não ocorrer reação imediata, deixa-se a solução em repouso por 24 horas.

#### 3.2.4.6 Pesquisa de cumarinas

Transferiu-se para um becker (250 mL de capacidade) 50 mL do extrato alcoólico e adicionou-se 5 mL de ácido clorídrico (HCl) 1N e reduziu-se o volume em B.M. até 10 mL. Adicionou-se 5 mL de água destilada e extraiu-se em funil de separação com 15 mL de clorofórmio ( $CHCl_3$ ), 3 vezes de 5 mL. Reduziu-se o volume do extrato orgânico, para 5 mL em B.M. Em papel de filtro, marcou-se três pontos com grafite, e colocou-se em cada ponto uma gota do extrato clorofórmico concentrado. Deixou-se secar e adicionou-se uma gota de hidróxido de sódio (NaOH) a 10% sobre a mancha 1 e 2. Cobriu-se a mancha 1 com uma moeda e observou-se o desenvolvimento de fluorescência azul a amarelo-esverdeado na mancha 2, que indica reação positiva e presença de cumarinas.

Em um tubo de ensaio, transferiu-se o restante do extrato clorofórmico e 2 mL de hidróxido de amônia ( $NH_4OH$ ) concentrado, agitou-se e observou-se a ocorrência de fluorescência azul ou amarelo-esverdeado.

#### 3.2.5 Triagem do extrato aquoso a 20%

Observou-se e determinou-se: cor, odor, sabor e pH.

### 3.2.5.1 Pesquisa de glicosídeos antociânicos

Separou-se 3 porções de 5 mL do extrato aquoso, em 3 tubos de ensaio:

- a) 1<sup>o</sup> tubo: acidificou-se com ácido clorídrico (HCl) N;
- b) 2<sup>o</sup> tubo: alcalinizou-se com hidróxido de amônia (NH<sub>4</sub>OH);
- c) 3<sup>o</sup> tubo: neutralizou-se.

Observou-se as colorações: cores diferentes indicam reação positiva para glicosídeos antociânicos. Os glicosídeos antociânicos possuem caráter anfótero, em presença de ácido reagem formando sais de amônio, adquirindo coloração vermelha; com bases reagem com as hidroxilas fenólicas livres, adquirindo coloração (azul), devido à estrutura quinóide (OH livre) adquirida.

### 3.2.5.2 Pesquisa de glicosídeos saponínicos

Agitou-se energicamente os três tubos de ensaio da pesquisa anterior, por um minuto. Mediu-se a espuma formada e deixou-se em repouso por 30 minutos. Espuma persistente indica a presença de glicosídeos saponínicos.

### 3.2.5.3 Pesquisa de glicosídeos cianogenéticos

Transferiu-se para um tubo de ensaio, 5 mL do extrato aquoso, de modo a não umedecer as paredes do tubo e 1 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) N. Suspendeu-se uma tira de papel picro-sódico com auxílio de uma rolha de cortiça, de modo que o papel não tocasse no extrato. Levou-se o tubo de ensaio ao banho-maria a 60<sup>o</sup>C, por 30 minutos. O desenvolvimento de coloração avermelhada no papel picro-sódico, indica a presença de glicosídeos cianogenéticos (formação de isopurpurato de sódio).

Preparo do papel picro-sódico

Reativo: ácido pícrico a 1% e carbonato de sódio a 10%.

Embebeu-se em solução de ácido pícrico a 1%, tiras de papel de filtro de 1 cm de largura, secou-se ao abrigo de luz e mergulhou-se, após secas, em solução de carbonato de

sódio a 10%. Secou-se e acondicionou-se as tiras em frascos apropriados (coloração das tiras: amarela).

#### 3.2.5.4 Pesquisa de taninos

##### a) Reação com sais de ferro

a.1) Reação com cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) a 1%: Transferiu-se 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio e adicionou-se 3 a 5 gotas de  $\text{FeCl}_3$ . O desenvolvimento de coloração azul, verde, mistura de cores ou formação de precipitado, indica a presença de taninos;

a.2) Reação com sulfato de ferro amoniacal [ $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ ]: realizou-se o mesmo procedimento de a.1.

##### b) Reação com solução de gelatina a 2.5% em cloreto de sódio ( $\text{NaCl}$ ) a 0,9%:

Transferiu-se para 3 tubos de ensaio: 0,5; 1,0 e 2,0 mL de extrato aquoso. Adicionou-se a cada tubo 2,0 mL da solução de gelatina a 2,5%. A obtenção de precipitado indica a presença de taninos.

Interpretação:

Extrato (mL)	Solução de gelatina (mL)	Resultado
0,5 mL	2,0 mL	+++
1,0 mL	2,0 mL	++
2,0 mL	2,0 mL	+

##### c) Reações com sais de chumbo (acetato de chumbo, solução a 10%)

Transferiu-se 5 mL do extrato aquoso para um tubo de ensaio, adicionou-se 5 mL de ácido acético a 10% e gota a gota 5 mL da solução de acetato de chumbo. A formação de precipitado indica a presença de taninos.

#### d) Reação de formol-clorídrico

Transferiu-se para um balão de 100 mL de capacidade, 50 mL do extrato aquoso, 6 mL de formaldeído e 4 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. Acoplou-se o balão a um condensador e levou-se a refluxo por 1 hora. Deixou-se esfriar e filtrou-se. Reservou-se o filtrado para a pesquisa de taninos hidrolisáveis. Lavou-se o resíduo do papel de filtro com etanol a 70%. Ao resíduo (isento de formol-clorídrico) gotejou-se solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH) a 5%. O desenvolvimento de coloração, indica a presença de taninos condensados.

Ao filtrado, adicionou-se excesso de acetato de sódio (sem agitar) e gotas de solução aquosa de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) a 1%. O desenvolvimento de coloração azul, indica a presença de taninos hidrolisáveis.

#### 3.2.5.5 Pesquisa de aminogrupos

Concentrou-se 20 mL do extrato aquoso até 5 mL (em B.M. a  $60^\circ\text{C}$ ). Depositou-se em papel de filtro, em dois pontos determinados, 5 gotas do extrato concentrado em cada ponto (um serviu como padrão). Secou-se e nebulizou-se com reativo de Ninhidrina segundo FANNY e cols. Aqueceu-se em estufa a  $100^\circ\text{C}$  por 15 minutos. O aparecimento de coloração rósea ou azul violáceo indica presença de aminogrupos.

Obs.: Exceção - prolina e hidroxiprolina desenvolvem coloração amarela.

#### 3.2.5.6 Pesquisa de ácidos fixos

Transferiu-se para um balão, 50 mL do extrato aquoso e 5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 1N. Acoplou-se ao condensador e levou-se a refluxo durante 30 minutos. Esfriou-se e acidificou-se com ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e extraiu-se com éter, três vezes (10 mL cada vez). Reuniu-se os extratos etéreos e tratou-se com carvão ativado. Filtrou-se e evaporou-se em B.M. Aqueceu-se o resíduo por 10 minutos, em estufa à  $100^\circ\text{C}$ . Esfriou-se e adicionou-se 5 mL de solução aquosa de hidróxido de amônia ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) N. Filtrou-se e transferiu-se para papel de filtro, três gotas do extrato amoniacal em dois pontos previamente determinados, de modo a obter uma mancha com 1 cm de diâmetro. Secou-se a mancha em

estufa a 100<sup>0</sup>C, durante 10 minutos. Tratou-se a mancha com o Reagente de Nessler. O desenvolvimento de coloração marrom, indica a presença de ácidos fixos.

Nota: Este reativo reage com NH<sub>4</sub><sup>+</sup> desenvolvendo coloração marrom ou formando precipitado marrom.

### 3.2.5.7 Pesquisa de ácidos voláteis

Transferiu-se para um tubo de ensaio, 5 mL do extrato aquoso e acrescentou-se 1 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1N. Suspendeu-se uma tira do papel indicador de pH com uma rolha, e levou-se ao B.M. a 60<sup>0</sup>C durante 30 minutos. A mudança de coloração no papel de pH indica a presença de ácidos voláteis.

### 3.2.6 Determinação do índice de intumescência ( FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988)

Conduziram-se simultaneamente, três determinações. Pesou-se e acondicionou-se em uma proveta de 25 mL com tampa esmerilhada, exatamente 1 g do material vegetal pulverizado. O comprimento da parte graduada foi de aproximadamente 125 mm e o diâmetro interno próximo de 16 mm, subdivididos em 0,2 mL e marcados de 0 a 25 mL de forma ascendente. Adicionou-se 25 mL de água deionizada, e agitou-se a solução a cada 10 minutos, por uma hora. Deixou-se a mistura em repouso por três horas, à temperatura ambiente. Mediu-se o volume (mL) ocupado pelo material vegetal, acrescido do material aderido. Realizou-se então o cálculo do valor médio obtido a partir das três determinações realizadas.

### 3.3 ESTUDOS FARMACOLÓGICOS

#### 3.3.1 Material biológico

Os animais foram fornecidos pelo Biotério do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, em condições controladas de temperatura e iluminação, tendo livre acesso a água e ração.

Foram utilizados camundongos fêmeas adultas *Mus musculus*, variedade Swiss, pesando entre 25 e 30 g, nas metodologias para Dose Letal 50% e Teste Geral de Atividades.

Foram utilizados ratos fêmeas adultas *Rattus norvegicus*, variedade Wistar albino, pesando entre 180 a 200 g, nas técnicas de Indução de Lesão Gástrica por Etanol, Indometacina, Estresse, Estudo da Secreção Gástrica e Tratamento Crônico (15 dias).

Os testes farmacológicos foram realizados com o extrato bruto aquoso do látex de *Synadenium grantii* (EBS), procurando reproduzir as mesmas doses empregadas pela população, que segundo informações populares colhidas no município de Goioerê - Paraná, utiliza 10 gotas do látex diluídas em 1000 mL de água fervida. No tratamento para úlcera, a população ingere uma colher de sopa (15 mL) da solução citada acima, uma vez ao dia pela manhã. Para câncer é utilizada na primeira semana 1 colher de sopa, 1 vez ao dia; na segunda semana duas colheres, após as refeições e a partir da terceira semana 3 colheres três vezes ao dia pela manhã, tarde e noite até acabar o tratamento.

#### 3.3.2 Obtenção do extrato e determinação do peso seco

Para determinar as doses administradas aos camundongos realizou-se o peso seco nas seguintes concentrações: 1 gota de látex fresco/100 mL de água fervida; 10gotas/ 100 mL e 10 gotas/10 mL. Foram utilizadas seis amostras contendo 0,2 ; 0,5 e 1,0 mL de cada uma das soluções supracitadas. Estas amostras foram reduzidas à secura. Como na secagem ocorreu evaporação total, não sendo possível determinar o peso seco, utilizou-se então 6 gotas frescas, as quais foram pesadas separadamente para obtenção do peso médio, que foi de 17 mg/gota de látex, correspondendo a 170 mg de látex/1000 mL de água. Uma colher de sopa (15 mL) corresponde a 2,55 mg/dia do EBS. Considerando uma

adulta com 60 kg a dose utilizada pela população é de 0,043 mg/kg/dia/úlceras e de 0,043 mg x 3 (doses diárias) = 0,13 mg /kg/dia/câncer.

### 3.3.3 As concentrações estoque utilizadas para os testes farmacológicos foram:

Solução 1: 10 gotas de látex = 170 mg/1000 mL de água fervida correspondendo a 0,17 mg/ mL;

Solução 2: 10 gotas = 170 mg/500 mL correspondendo a 0,34 mg /mL;

Solução 3: 10 gotas = 170 mg/250 mL correspondendo a 0,68 mg/ mL;

Solução 4: 10 gotas = 170 mg/100 mL correspondendo a 1,7 mg/ mL;

Solução 5: 10 gotas = 170 mg/25 mL correspondendo a 6,8 mg/ mL;

Solução 6: 10 gotas = 170 mg/10 mL correspondendo a 17 mg/ mL;

Estas soluções foram sempre utilizadas no máximo dentro de três dias e conservadas em geladeira.

### 3.3.4 Dose letal 50% - DL<sub>50</sub> (LITCHEFIELD e WILCOXON, 1948)

Para a determinação da dose letal (DL<sub>50</sub>) do extrato bruto aquoso do látex de *S. grantii* (EBS) utilizou-se para cada dose, grupos de 6 a 12 camundongos fêmeas, pesando entre 25 a 30 g. As doses do extrato foram administradas por duas vias, intraperitoneal (ip) e oral por gavagem (vo).

Foram determinadas a dose máxima em que todos os animais permaneceram vivos num período de 24 horas, a dose letal 50% e a dose mínima capaz de promover a morte de 100% dentro de 24 horas.

Foram administradas por via intra-peritoneal (ip) as doses de 25 mg/kg; 30 mg/kg; 40 mg/kg; 50 mg/kg; 60 mg/kg e 70 mg/kg, e por via oral (vo) doses de 100 mg/kg; 300 mg/kg e 600 mg/kg.

### 3.3.5 Teste de atividades gerais (MALONE, 1977)

Os efeitos gerais produzidos pelo EBS foram observados após a administração das doses do EBS no estudo da DL<sub>50</sub>. Os animais foram colocados sobre uma superfície plana e ficaram em deambulação livre, desde o primeiro minuto após a administração do extrato, e

foram observados continuamente num período de seis horas e em intervalos constantes durante 14 dias.

### 3.3.6 Atividades sobre o trato gastrointestinal

As técnicas utilizadas nos testes de Lesões e Secreções Gástricas foram padronizadas para as condições do Departamento de Farmacologia da UFPR por NOVACKI (1997).

#### 3.3.6.1 Lesões gástricas induzidas por indometacina (DJAHANGURI, 1969)

As lesões gástricas foram induzidas com injeção de indometacina (10 mg/kg) por via subcutânea (sc). Foram mantidos trinta ratos em jejum de quinze horas, com água “ad libitum”. Sessenta minutos antes da injeção do antiinflamatório, dezoito animais foram tratados por gavagem com o EBS nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/kg, seis animais com água (5 mL/kg) e seis animais com ranitidina (60 mg/kg) vo. Seis horas após a administração da indometacina, os animais foram sacrificados por anestesia etérea profunda, seus estômagos removidos e abertos com tesoura ao longo da curvatura menor, a mucosa foi lavada com água destilada e após fixados em placa de isopor para inspeção das lesões gástricas.

Na avaliação dos resultados, foi considerado o número total de úlceras e a média dos índices de lesão, os quais foram determinados de acordo com o tipo de lesão e a seguinte pontuação:

- perda de pregas da mucosa.....	1 ponto
- descoloração da mucosa.....	1 ponto
- edema.....	1 ponto
- hemorragias.....	1 ponto
Número de petéquias:	
- até 10 petéquias.....	2 pontos
- mais de 10 petéquias.....	3 pontos
Intensidade de ulceração:	
- úlceras menores que 1 mm.....	n x 2 pontos
- úlceras maiores que 1 mm.....	n x 3 pontos
- úlceras perfuradas.....	n x 4 pontos

Onde  $n$  refere-se ao número de úlceras encontradas.

O índice de lesão foi calculado com auxílio de lupa e expresso em função do estômago inteiro.

Os resultados correspondentes aos valores calculados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão das médias, os quais foram plotados em gráficos e comparados estatisticamente pelo teste “t” de Student não pareado e ANOVA.

### 3.3.6.2 Lesões gástricas induzidas por estresse (SENEY e LEVINE, 1967)

O estresse foi produzido por imobilização dos animais mantidos à 4°C durante três horas. Cinco grupos de seis ratos em jejum de quinze horas foram tratados por via oral com água (5 mL/kg), com EBS nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/kg e com ranitidina (60 mg/kg), controle positivo. Sessenta minutos após esses tratamentos os animais foram superficialmente anestesiados com éter para que pudessem ser imobilizados em contêntores apropriados. Os contêntores foram colocados em ambiente à 4°C durante três horas e após esse período, os animais foram sacrificados sob anestesia etérea profunda, seus estômagos removidos e inspecionados como descrito anteriormente.

### 3.3.6.3 Lesões gástricas induzidas por etanol (ROBERT *et al.*, 1979)

Cinco grupos de seis ratos em jejum de quinze horas foram tratados com água (5 mL/kg), com EBS nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/kg e com ranitidina (60 mg/kg) por via oral. Sessenta minutos após esses tratamentos, administraram-se por gavagem 0,5 mL de etanol 70%. Uma hora após a administração do etanol, os animais foram sacrificados sob anestesia etérea profunda, seus estômagos removidos e as lesões gástricas inspecionadas conforme o procedimento descrito nos modelos anteriores.

### 3.3.6.4 Estudo da secreção gástrica (H<sup>+</sup> e pepsinas) - método da ligadura pilórica (SHAY *et al.*, 1945)

Cinco grupos de ratos com  $n = 6$  cada, foram mantidos em jejum de 15 a 18 horas com acesso livre a água contendo 5% de glicose. Após anestesia etérea profunda, foi realizada tricotomia da parede abdominal. Através de uma incisão de cerca de 2 cm logo

abaixo do apêndice xifóide, o estômago foi localizado, exteriorizado e em seguida o piloro foi amarrado com fio de sutura com a finalidade de obstruir a passagem do conteúdo gástrico para o duodeno. Após a ligadura do piloro, os animais do grupo controle receberam 0,5 mL de água/100g de peso; um grupo recebeu 60 mg/kg de ranitidina e os outros três grupos receberam as doses de 0,5 g/kg; 1,0 g/kg e 2,0 g/kg do EBS pela via intraduodenal. Após a acomodação das vísceras, foi suturada a parede abdominal. Transcorridas 4 horas da cirurgia, os animais foram sacrificados com anestesia etérea profunda e seus estômagos foram então removidos após pinçamento do esôfago, para evitar perda do conteúdo secretado. Os estômagos foram lavados externamente com água, secos com gaze e abertos ao longo da curvatura menor (sempre mantidos sobre placas de gelo), a mucosa foi lavada com 3 mL de água e o conteúdo gástrico foi recolhido em tubos de ensaio imersos no gelo. Os tubos foram centrifugados (1500 rpm durante 30 minutos), em seguida foi medido o volume do conteúdo gástrico em provetas de 20 mL.

#### 3.3.6.5 Determinação da acidez do conteúdo gástrico

Após a determinação do volume do sobrenadante do suco gástrico em proveta, o conteúdo foi completado com água destilada para um volume final de 15 mL. A acidez livre foi determinada em pHmetro e a acidez total por titulação simples com hidróxido de sódio (NaOH) 0.1 N, utilizando fenoftaleína como indicador ácido-base. Os resultados da acidez total foram expressos como média  $\pm$  erro das médias em  $\text{mEq}[\text{H}^+]/\text{mL}$ .

#### 3.3.6.6 Determinação da atividade péptica do suco gástrico (Método modificado de Anson, 1938)

Foram coletadas alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  do conteúdo gástrico após a centrifugação. Estas amostras foram incubadas com 500  $\mu\text{L}$  de solução de albumina (5 mg/mL em ácido clorídrico 0,06 N) à 37°C durante 10 minutos. A reação foi interrompida com 200  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético 10% e as amostras foram centrifugadas a 1500 rpm por 20 minutos. Após a centrifugação recolheu-se o sobrenadante, que foi alcalinizado com 2,5 mL de carbonato de sódio 0,55 M e finalmente foi adicionado 400  $\mu\text{L}$  de reagente de Folin nos tubos testes. Estes foram incubados por 30 minutos à temperatura ambiente. Foi determinada então, a absorbância das amostras por leitura espectrofotométrica a 660 nm. Os

resultados foram interpolados numa curva padrão e expressos como média  $\pm$  padrão das médias em  $\mu\text{g}$  de pepsina/mL/4h.

#### 3.3.6.7 Tratamento crônico -15 dias (CARLINI, 1988)

Foram administrados em ratos de 180 a 200 g, a mesma dose utilizada popularmente para o tratamento anti-úlceras (0,0425 mg/kg) por via oral uma vez ao dia, no mesmo horário, durante 15 dias. Foram administradas as seguintes doses: dose terapêutica, 0,0425 mg/kg (DT); dez vezes a dose terapêutica, 0,425 mg/kg (DT<sub>10</sub>); e vinte vezes a dose terapêutica, 0,85 mg/kg (DT<sub>20</sub>). Como o rato apresenta superfície corpórea aproximadamente sete vezes maior do que a do homem, utilizou-se a DT<sub>10</sub> para testar a dose equivalente a DT no homem, e para tentar atingir aqueles animais que apresentam menor sensibilidade, utilizou-se em ratos, também a DT<sub>20</sub>. Os animais foram mantidos em condições normais de alimentação e fotoperíodo. Ao término do tratamento os animais foram sacrificados sob anestesia etérea profunda, e seus estômagos removidos para análise conforme descrito nos modelos anteriores.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.

#### 4.1 ESTUDOS BOTÂNICOS

4.1.1 Descrição de *Synadenium grantii* Hook f. (Flora of Tropical Africa. v. 6 - sections 1. Nyctaginaceae to Euphorbiaceae. p. 468. 1913) e (Bot. Mag. 93:tab.5633. 1867. Type Uganda, West Nile District, Madi Leg. Grant 754 (Holotype K):

Arvoreta de aproximadamente 10 m ou arbusto de 1 a 2 m de altura (figs. 01 e 02). Caule glabro, suculento e lactescente; látex leitoso (fig. 03). Folhas levemente suculentas, alternas, simples de 7 a 10 cm de comprimento por 2,5 - 6,5 de largura, lanceolada a obovada; ápice obtuso ou subagudo, apiculada, estreitando-se do ápice para base, margem lisa ou fortemente ondulada; borda inteira ou finamente denteada, glabra em ambas as superfícies com margens ligeiramente ciliadas (figs. 04 e 05). Inflorescência em cimeiras axilares de 7,5 - 15 cm de comprimento por 5 - 10 cm de largura (figs. 04 e 05). Levemente pubescente na parte superior e glabra na parte inferior. Brácteas de 0,3 - 0,4 cm de comprimento por 0,1 - 0,2 cm de largura, subquadradas, ápice obtuso ou subtruncado, margem e bordo inteira ou finamente pubescente de coloração avermelhada (figs. 04 e 07). Invólucro bissexual ou separado em masculino e feminino de 0,6 cm de diâmetro por 0,2 - 0,3 cm de altura. O invólucro é côncavo, podendo ser raro ou mais profundo e ao redor de seu bordo apresenta formações glandulares (5) concrecidas de coloração vermelho escuro; pubescente na base e glabro na parte superior. Ovário puberulo ou pubescente. Perianto truncado ou levemente tri-lobado. Estiletos bífidos na parte superior e conatos da metade até a base. Estigmas divergentes e recurvados. (THISELTON-DYER, 1913 modificado por A. C. Cervi, 1998).

#### 4.1.2 Morfologia da folha

A espécie *Synadenium grantii* Hook f. apresenta folhas simples, completas, sem estípulas, simétricas, com filotaxia alterna (fig. 05). A lâmina foliar varia de lanceolada a obovada, apresenta consistência levemente suculenta, margem lisa ou fortemente ondulada com tricomas, ápice obtuso ou subagudo e base cuneada.

Em vista frontal é possível observar o percurso da nervura mediana que divide simetricamente a folha, sendo saliente na face abaxial, com as nervuras de médio porte oblíquas, que se diferenciam nas de menor porte. O padrão de venação é reticulado, do tipo pinada, camptódroma, eucamptódroma (figs. 05 e 06). Esta descrição confere com a chave de HICKEY (1974).

#### 4.1.3 Anatomia da folha

A epiderme em vista frontal revela nas faces adaxial e abaxial, células de formatos e tamanhos irregulares com paredes anticlinais retas (figs. 14 e 15).

Em secção transversal a epiderme é uniestratificada (figs. 16 e 17). A face adaxial é formada por células alongadas no sentido longitudinal e apresenta dimensões maiores que as da face abaxial. As da face abaxial revelam paredes periclinais externas ligeiramente papilosas. Espessamento epicuticular e depósitos de cera epicuticular, são freqüentes em ambas as faces (figs. 08 e 09).

De acordo com SOLEREDER (1908); METCALFE e CHALK (1965), as paredes anticlinais da epiderme dos integrantes da família Euphorbiaceae podem ser retas ou sinuosas. Segundo BENEDI e ORELL (1993), a epiderme de *Chamaesy peplis* e *Chamaesy polygoniflora* apresentam as paredes anticlinais da epiderme retas, idênticas as de *S. grantii*.

SOLEREDER (1908); METCALFE e CHALK (1965), relatam que a superfície das folhas é freqüentemente revestida por cera, especialmente no caso das *Euphorbia* suculentas. MOLLERO e ROVIRA (1992), citam que as espécies de *Euphorbia esula* apresentam cera epicuticular nas faces adaxial e abaxial. BENEDI e ORELL (1993), citam que a epiderme adaxial de *C. prostata* e *C. serpens* apresentam cera epicuticular, assim como *C. vulgaris* na face abaxial. *S. grantii* apresenta cera epicuticular semelhante a estas espécies em ambas as faces.

FAHN (1990), comenta que a estrutura e quantidade de cera superficial tem grande importância na impermeabilidade da superfície epidérmica. ESAU (1993), propõe que tais depósitos não parecem desempenhar papel importante na redução da transpiração, mas reduzem a umectação da superfície. Segundo PUJULA (1956), a cera parece contribuir juntamente com a cutícula na diminuição da transpiração, além de impedir que a água obture os estômatos. Price, 1982 *apud* MAUSETH (1988), comenta que a cera apresenta efeitos variados. Este depósito pode deixar a superfície extremamente hidrofóbica e não

reter umidade, uma importante consideração quando se trata da aplicação de substâncias exógenas como herbicidas ou reguladores de crescimento. Por outro lado, a cera pode produzir superfícies que aumentam a umidade e permite que a mesma seja distribuída como uma camada refrescante sobre a planta. Na forma de bastonetes ou placas, a cera pode criar espaços de ar que circundam os estômatos, auxiliando na manutenção da umidade dos mesmos. O arranjo irregular destes bastonetes ou placas, também possuem efeito protetor. MAUSETH (1988), comenta ainda que a maioria dos raios de luz quando incidem sobre a superfície da folha podem ser imediatamente refletidos nos tecidos abaixo. Alguns raios quando atingem a cera epicuticular, fazem com que a luz penetre nas suas partículas refletindo para outras mais abaixo, desviando assim os raios luminosos, devido a sua própria disposição. Isto reduz os danos aos pigmentos e o aquecimento da folha.

O aparecimento de cera epicuticular em *S. grantii* é justificado primeiro, porque a folha apresenta estômatos em ambas as faces, necessitando portanto de umidade. Segundo, porque este vegetal é desprovido de tricomas na lâmina foliar, sendo que os mesmos se encontram reduzidos apenas aos bordos das folhas. Os tricomas do bordo foliar são tectores, pluricelulares simples (figs. 10, 11, 12 e 13). De acordo com THISELTON-DYER (1913), as folhas de *S. grantii* são glabras, e suas margens são levemente ciliadas, ou seja, apresentam tricomas no bordo foliar.

SOLEREDER (1908), observou o desenvolvimento de células papilosas na epiderme das folhas de algumas Euphorbiaceae.

O complexo estomático é do tipo paracítico e se faz presente em ambas as faces, ocorrendo em maior quantidade na face abaxial, caracterizando a folha como anfi-hipoestomática (figs. 14, 15, 16 e 17). Segundo SOLEREDER (1908), na maioria das Euphorbiaceae predominam os estômatos do tipo paracítico, este é acompanhado por uma ou mais células subsidiárias, as quais se encontram paralelas à abertura estomática. Estômatos paracíticos são também freqüentemente encontrados nos caules suculentos de um grupo de *Euphorbia* indígenas de Madagascar (Constantin e Gallaud *apud* SOLEREDER, 1908). De acordo com METCALFE e CHALK (1965), os estômatos são usualmente do tipo paracítico na tribo Euphorbiae, mencionando como exemplo, *Euphorbia* e *Mercuriales*, da qual *S. grantii* faz parte. SOLEREDER (1908); METCALFE e CHALK (1965) e WATSON *et al.* (1992 e 1997), citam que os estômatos estão usualmente confinados à face abaxial, podendo ocorrer mais raramente em ambas as faces.

A nervura principal se caracteriza por apresentar uma região proeminente na face abaxial (fig. 19). A organização do mesofilo é dorsiventral (fig. 16, 17 e 18). De acordo com SOLEREDER (1908); METCALFE e CHALK (1965) e WATSON *et al.* (1992 e 1997), este tipo de mesofilo pode ocorrer na família Euphorbiaceae.

O mesofilo como um todo é constituído de células com formato poliédrico, tendendo a levemente arredondadas (fig. 18). O que caracteriza o mesofilo do tipo dorsiventral, são pequenos espaços intercelulares na face adaxial.

As nervuras de menor porte presentes no mesofilo, são envolvidas por uma bainha parenquimática. É freqüente a ocorrência de elementos traqueais helicoidais e/ou espiralados nestas nervuras.

Idioblastos portadores de compostos fenólicos ocorrem tanto nas células epidérmicas quanto no mesofilo (fig. 20), bem como laticíferos isolados (fig. 18). METCALFE e CHALK (1965), relatam que foram encontrados idioblastos solitários ou em grupos, contendo compostos fenólicos, em material da família Euphorbiaceae proveniente de herbário.

Em secção transversal o feixe vascular principal é do tipo colateral (fig. 21). As células parenquimáticas da periferia para o interior vão aumentando gradativamente de tamanho à medida que se aproximam do feixe vascular principal, para então diminuir novamente (fig. 19).

Idioblastos portadores de compostos fenólicos se encontram também entre as células parenquimáticas. Os laticíferos se anastomosam em vários sentidos e direções (fig. 25), ou se encontram isolados, dispersos entre as células parenquimáticas, e principalmente em grandes quantidades nas regiões externas ao arco de floema e com menor freqüência no parênquima do sistema vascular (figs. 19, 21 e 22).

O feixe vascular da nervura principal é composto por um sistema contendo xilema subdividido. O floema se dispõe externamente ao xilema, em forma de arco, com a abertura voltada para a face adaxial. Todo o mecanismo de lignificação, é representado por células do xilema (figs. 19, 21 e 22). De acordo com SOLEREDER (1908) e METCALFE e CHALK (1965), os feixes vasculares dos membros desta família podem ou não serem acompanhados de tecido esclerenquimatoso.

#### 4.1.4 Laticíferos

Os laticíferos presentes nesta espécie são do tipo articulado (figs. 23, 24, 25, 26, 27 e 28).

O sistema de WEBSTER (1975), adicionou à subfamília Euphorbioideae, tribo Euphorbieae e subtribo Euphorbiinae os gêneros *Chamaesyce*, *Cubanthus*, *Endadenium*, *Monadenium*, *Pedilanthus* e *Synadenium*, por apresentarem laticíferos não articulados (raramente ausentes), contendo látex esbranquiçado, freqüentemente cáustico ou tóxico, entre outras características relevantes na taxonomia. Neste mesmo trabalho o autor cita que os representantes da subfamília Crotonoideae apresentam laticíferos articulados ou não, contendo látex incolor, amarelado ou esbranquiçado e inócuo, além de outros caracteres taxonômicos.

BIESBOR e MAHLBERG (1981), relatam que após examinar os grãos de amido do látex nos gêneros da família Euphorbiaceae, somente considerou pertencente a tribo Euphorbieae os gêneros portadores de grãos de amido ocorrentes no látex. Incluem nesta tribo *Pedilanthus*, *Monadenium* e *Synadenium*, os quais tem em comum com os gêneros de *Euphorbia* suculentas, grãos de amido osteóides, ausência de anatomia Kranz e metabolismo ácido crassuláceo (CAM). Os autores não fazem menção ao tipo de laticíferos e nem à subfamília a qual pertencem estes gêneros.

RUDALL (1986), menciona o ocorrência de laticíferos na família Euphorbiaceae, e chama atenção para a necessidade de uma análise mais acurada a respeito dos mesmos. De acordo com a autora, na classificação de Pax e Hoffmann (1931), o gênero *Synadenium* Boiss pertence à subfamília Crotonoideae e tribo Euphorbieae por apresentar laticíferos não articulados, *apud* Solereder (1908); Biesbor e Mahlberg (1981), mas que no sistema de classificação de Webster (1975), os gêneros *Chamaesyce*, *Cubanthus*, *Endadenium*, *Monadenium*, *Pedilanthus* e *Synadenium*, foram transferidos para a subfamília Euphorbioideae, tribo Euphorbieae e subtribo Euphorbiinae, por apresentarem laticíferos não articulados (raramente ausentes) com látex esbranquiçado, freqüentemente cáustico ou tóxico, entre outras características relevantes na taxonomia.

Doze anos mais tarde WEBSTER (1987), comenta que apesar dos 150 anos de estudos entre a relação intrafamiliar nos gêneros da família Euphorbiaceae, seguindo o trabalho pioneiro de Jussieu (1824), as subfamílias e tribos de Euphorbiaceae, não estão até o momento satisfatoriamente definidas. Ainda nesta publicação o autor cita seu próprio

sistema de classificação realizado em 1975, enfatizando a estrita necessidade de estudos anatômicos e mais detalhes morfológicos, que ainda são escassos para muitos gêneros, antes que a classificação desta família possa ser considerada realmente consistente.

Na presente pesquisa, constatou-se a presença de laticíferos articulados em *Synadenium grantii* diferindo, portanto, da classificação descrita por PAX e HOFFMAN (1931), e confirmada por RUDALL (1986). A proposta efetuada por WEBSTER (1975), difere da anterior, em relação a subfamília, porém continua classificando os laticíferos de *Synadenium* como não articulados. Sugere-se então, que seja reavaliada a classificação proposta por WEBSTER (1975), já que *Synadenium grantii* apresenta laticíferos articulados, que não correspondem a subfamília Euphorbioideae, e também a proposta de PAX e HOFFMAN (1931) e RUDALL (1986), que classificam os laticíferos de *Synadenium* como não articulados, na subfamília Crotonoideae.

É clara, portanto, a necessidade de se realizar mais estudos referentes a ontogenia dos laticíferos presentes na família Euphorbiaceae, antes de classificá-los em articulados ou não, pois somente desta maneira, os mesmos poderão ser elucidados de forma eficiente e segura.

MAHLBERG (1987), cita que o sistema de Webster (1975), inclui a presença ou ausência de laticíferos, a coloração do látex, entre outros caracteres, para agrupar cinco subfamílias de Euphorbiaceae, entretanto, este sistema não utiliza os caracteres dos laticíferos na distinção entre os diferentes grupos. Segundo o autor os laticíferos apresentam características químicas e morfológicas, com aplicação potencial, como caracteres taxonômicos para auxiliar na delimitação das espécies e interpretar as tendências evolutivas da família Euphorbiaceae. O autor ainda comenta que as características dos laticíferos, utilizadas juntamente com estruturas morfológicas relevantes poderão aumentar a introspecção sobre as relações filogenéticas desta família.

#### 4.1.5 Anatomia do lenho

A descrição do lenho foi realizada de acordo com as Normas de Procedimento em Estudos de Anatomia da Madeira (1992) e IAWA Committee (1989).

#### 4.1.5.1 Descrição macroscópica

O lenho de *Synadenium grantii*, apresenta-se esbranquiçado a amarelado, não tendo sido observado se há distinção entre cerne e alburno. Apresenta grã irregular, camadas de crescimento indistintas e superfície sem brilho. O odor e sabor são indistintos.

Em secção transversal o parênquima axial é invisível mesmo sob lente de 10 x. No plano longitudinal tangencial os raios são visíveis sob lente de 10 x. RECORD e HESS (1972), comentam que na família Euphorbiaceae o parênquima do lenho, é raramente visível sem lentes, e que este é freqüentemente difícil de ser visualizado mesmo com a utilização das mesmas.

#### 4.1.5.2 Descrição microscópica

O lenho apresenta camadas de crescimento indistintas (fig. 29). RECORD e HESS (1972), citam que as camadas de crescimento podem ou não estar presentes, mas que estas são freqüentemente distintas nos membros da família Euphorbiaceae.

Os vasos apresentam porosidade difusa, sem conteúdo. Estes ocorrem solitários a múltiplos radiais (geralmente de 2 a 4, chegando até 11), em freqüência que variam entre 5 a 10 vasos por mm<sup>2</sup>, com diâmetros tangenciais variando entre 30 e 60 µm (figs. 29 e 30), concordando com o padrão apresentado por METCALFE e CHALK (1965).

Segundo RECORD e HESS (1972), os vasos que ocorrem nesta família são solitários, em pequenos grupos e múltiplos radiais, ocorrendo uma tendência para o arranjo radial ou diagonal dos poros solitários ou agrupados, coincidindo com o que foi observado.

As pontoações intervasculares são escalariformes (figs. 33, 36, 39, 40 e 48). METCALFE e CHALK (1965); RECORD e HESS (1972), relatam que nesta família as pontoações intervasculares são tipicamente alternas. RECORD e HESS (1972), relatam pontoações escalariformes apenas no gênero *Cubanthus* e em algumas espécies de *Euphorbia*. Estes gêneros pertencem à mesma tribo Euphorbieae e subtribo Euphorbiinae, as quais *Synadenium grantii* faz parte.

Os vasos apresentam placas de perfuração simples (figs. 31, 33, 47), concordando com SOLEREDER (1908); METCALFE e CHALK (1965); RECORD e HESS (1972) e WATSON *et al.* (1992 e 1997). As paredes terminais são oblíquas com apêndices curtos.

O parênquima axial é do tipo difuso em agregados e o paratraqueal é escasso. RECORD e HESS (1972), citam a ocorrência de parênquima paratraqueal em *Acalypha*. Segundo WATSON *et al.* (1992 e 1997), na família Euphorbiaceae é freqüente a presença de parênquima apotraqueal, e o paratraqueal é praticamente ausente e se ocorre é muito esparso. Os raios parenquimáticos são unisseriados (fig. 36), compostos por células quadradas e eretas, com pontoações radiovasculares arredondadas a horizontais (figs. 33 e 34), além de células perfuradas de raio (fig. 40). Apresentam de 4 a 16 células de altura, sendo a altura média de 8,5 células. A altura dos raios varia entre 380  $\mu\text{m}$  a 1260  $\mu\text{m}$ , sendo a média de 702  $\mu\text{m}$ . Segundo RECORD e HESS (1972), os raios são heterogêneos, e usualmente unisseriados na família Euphorbiaceae. Os autores ainda comentam que a altura dos raios é usualmente menor que 30 células, mas freqüentemente chega a mais de 50 células de altura.

METCALFE e CHALK (1965), citam que as pontoações das células dos raios parenquimáticos na família Euphorbiaceae, são simples, alongadas e freqüentemente escalariformes. Segundo RECORD e HESS (1972), as pontoações radiovasculares são ocasionalmente muito finas, freqüentemente largas a muito largas, tendendo a escalariformes.

Fibrotraqueídes se fazem presentes (figs. 36, 43 e 44) e ocasionalmente fibras septadas (figs. 45 e 46). O comprimento das fibras variam entre 720 a 1050  $\mu\text{m}$ , sendo a média de 906  $\mu\text{m}$ . Apresentam paredes finas da ordem de 1,5  $\mu\text{m}$  a espessas 5,0  $\mu\text{m}$ , freqüentemente com camada gelatinosa e pontoações areoladas com abertura alongada. Na maceração foi observada a presença de traqueídes, sem entretanto, saber se se tratam de traqueídes perivasculares ou dispersos (figs. 41 e 42). RECORD e HESS (1972), relatam que nas espécies da família Euphorbiaceae, as fibras apresentam paredes muito finas a muito grossas, sendo estas últimas freqüentemente gelatinosas, raramente septadas, como por exemplo em *Acalypha*. WATSON *et al.* (1992 e 1997), comentam sobre a presença de fibras libriformes no xilema do caule dos membros da família Euphorbiaceae.

Segundo RECORD e HESS (1972), as pontoações das fibras são tipicamente muito pequenas e estreitas, com pontoações areoladas distintas ou não, ou aparentemente simples, raramente largas com pontoações areoladas conspícuas.

Segundo MENNEGA (1987), são características da família Euphorbiaceae, ausência de placa de perfuração escalariformes nos vasos; presença de pontoações intervasculares médias a grandes, e pontoações radiovasculares semelhantes; presença de parênquima

apotraqueal difuso ou em faixas; raios heterocelulares; fibras com paredes finas e ausência de fibras septadas. A única característica de *S. grantii* que não confere com a descrição acima refere-se às fibras septadas, que aqui se fazem presentes.

Observou-se a ocorrência de canais secretores com conteúdo desconhecido (figs. 35, 36, 37 e 38). RECORD e HESS (1972), citam que ocorrem canais radiais em vários gêneros da família Euphorbiaceae, bem como na família Apocynaceae. E comentam também que nos raios parênquimáticos de *Anomalocalyx*, *Glycidendron*, *Hippomane*, e *Sebastiania pavoniana*, ocorre a presença de pequenos tubos laticíferos.

FIGURAS 01 a 04 - Aspectos gerais de *Synadenium grantii* Hook f.

- 01 - Vista geral do hábito de *S. grantii* Hook f. (Euphorbiaceae), Goioerê, Paraná, Brasil;
- 02 - Ramos férteis, destacando a disposição das inflorescências;
- 03 - Detalhe de um ramo fértil;
- 04 - Inflorescência em detalhe.



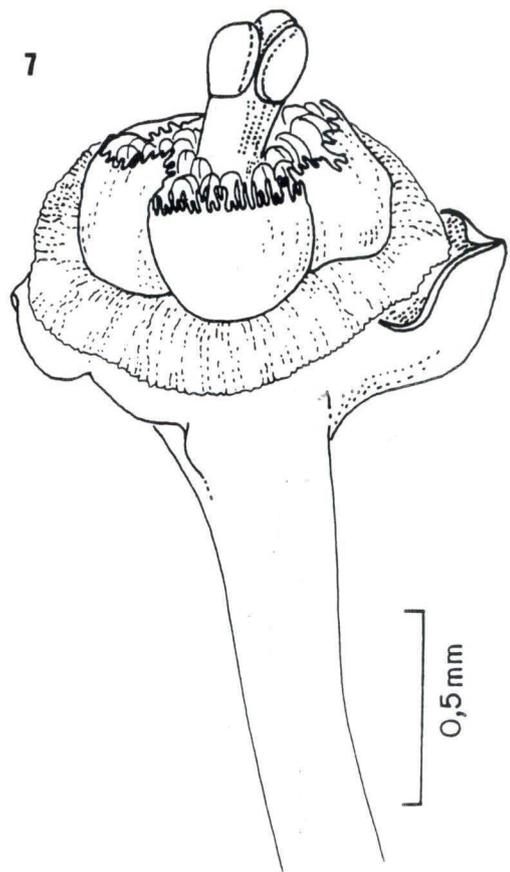
FIGURAS 05 A 07 - Detalhes das folhas e inflorescências de *Synadenium grantii* Hook f.

- 05 - Ramo revelando folhas com filotaxia alterna e venação reticulada;
- 06 - Detalhe da venação reticulada do tipo camptódroma eucamptódroma;
- 07 - Em detalhe um ciátio contendo um fruto.

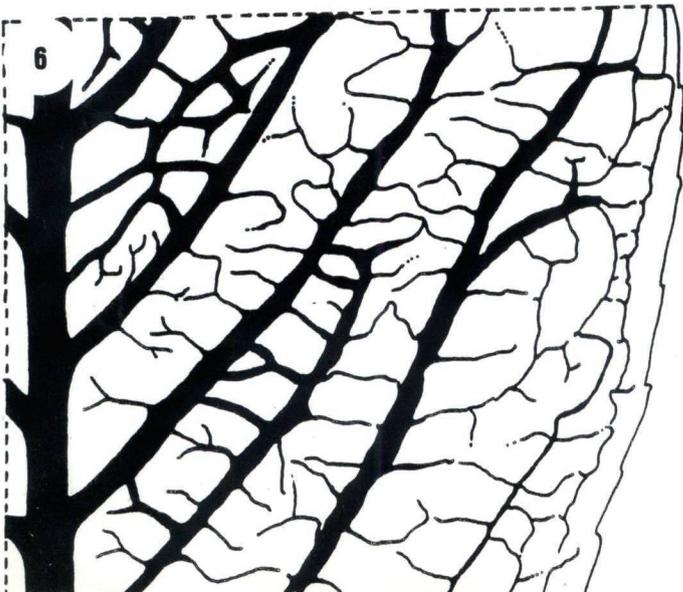
5



7



6



08 a 13 - Eletromicrografias em microscopia eletrônica de varredura da epiderme foliar de *Synadenium grantii* Hook f.

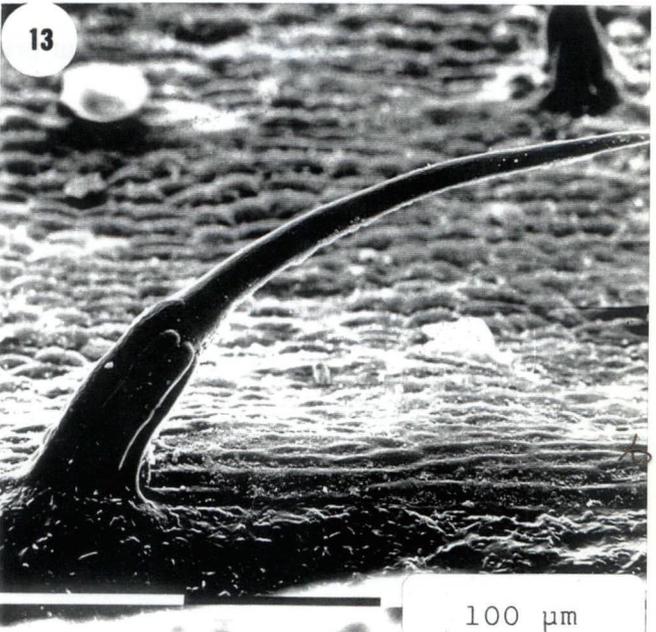
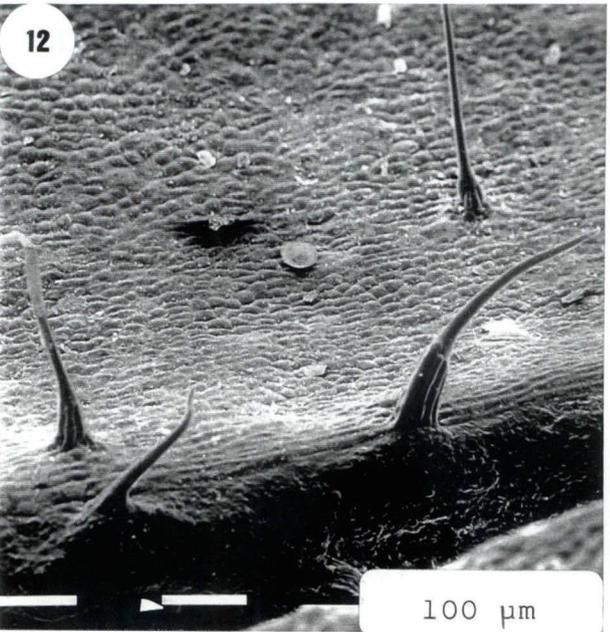
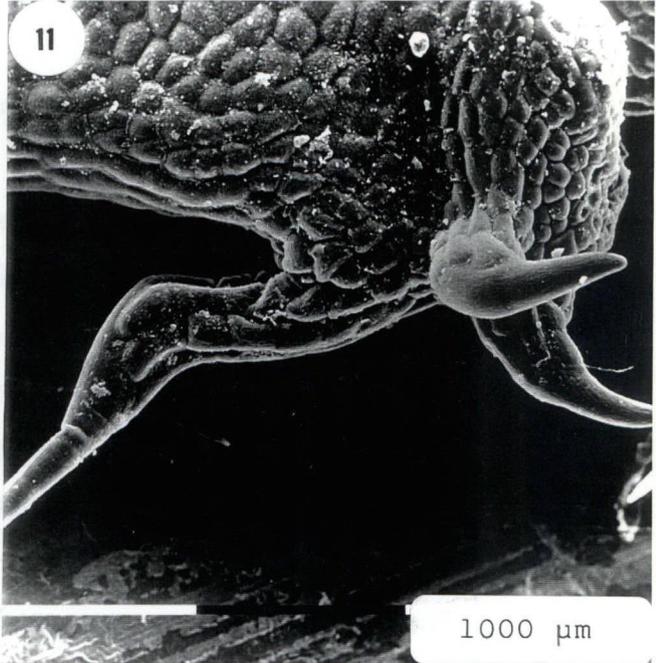
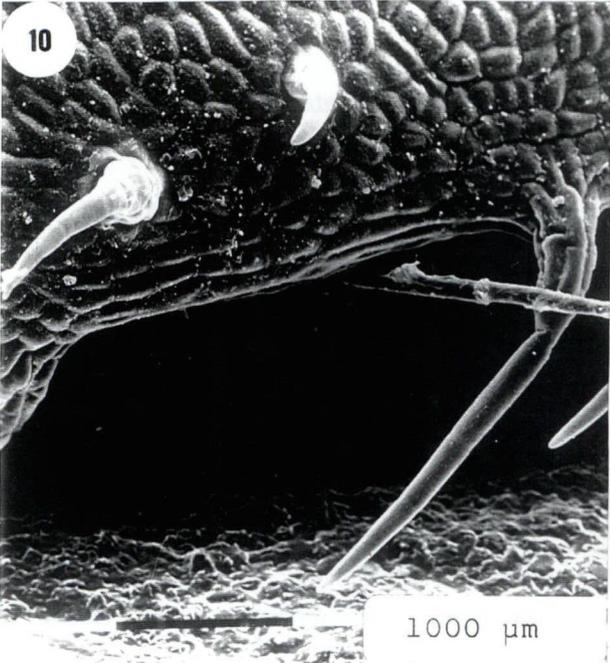
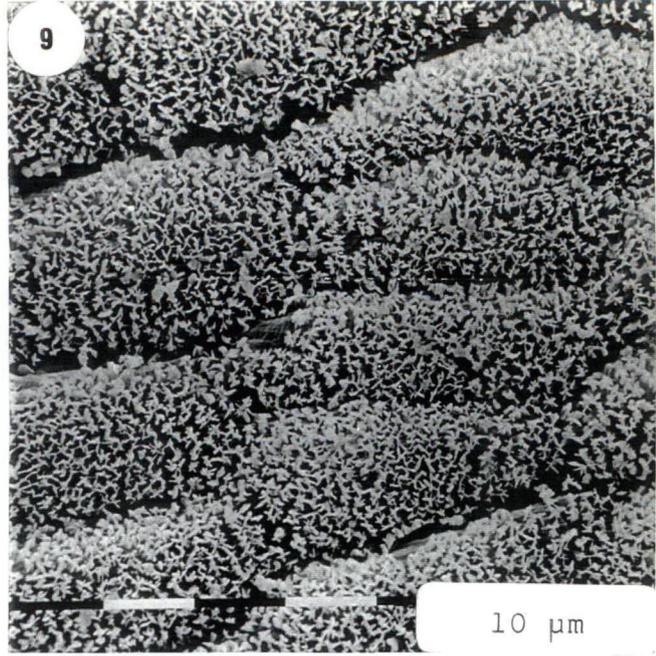
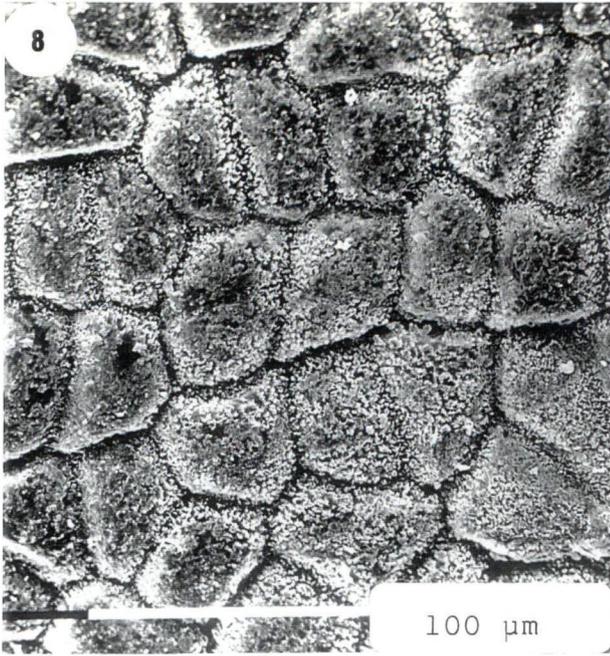
08 - Detalhe da face adaxial, evidenciando cera epicuticular (Microscopia eletrônica de varredura - M.E.V.);

09 - Detalhe da face abaxial, destacando cera epicuticular (M.E.V.);

10 e 11 - Bordo foliar da face adaxial revelando tricomas tectores (M.E.V.);

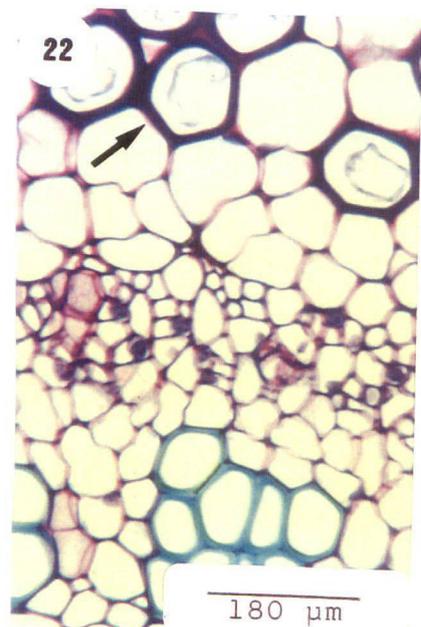
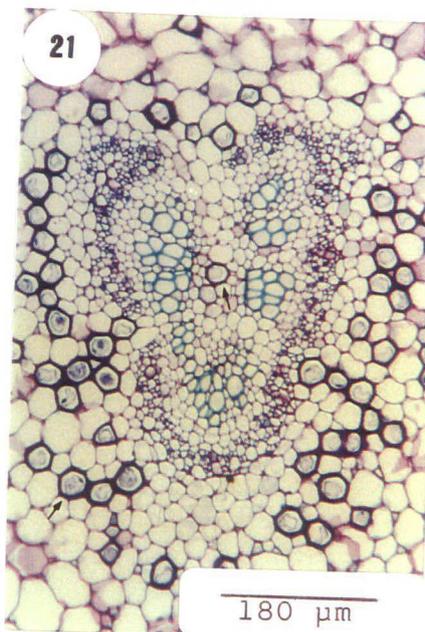
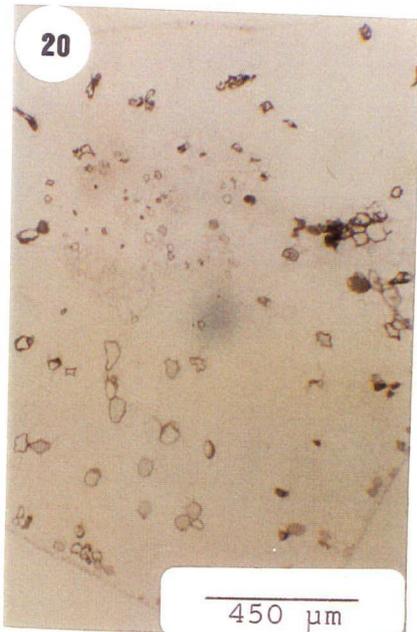
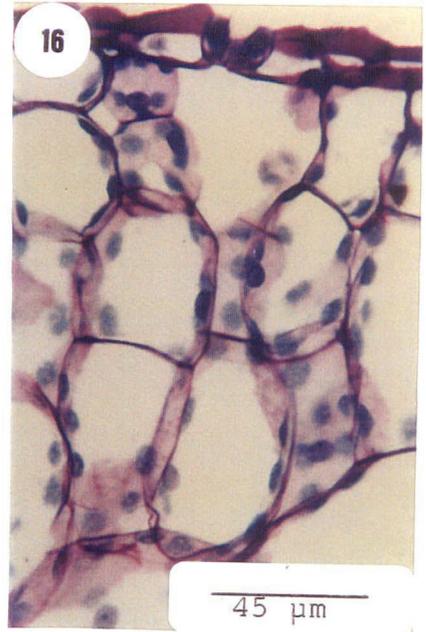
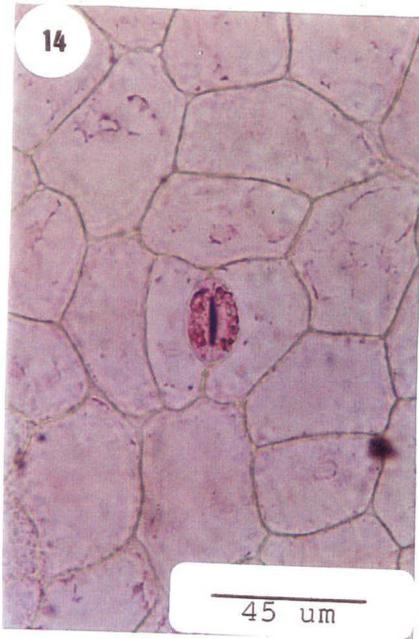
12 - Bordo foliar da face abaxial apresentando tricomas tectores (M.E.V.);

13 - Detalhe de tricoma da figura anterior (M.E.V.).



FIGURAS 14 a 22 - Aspectos de epiderme e lâmina foliar de *Synadenium grantii* Hook f.

- 14 - Vista frontal da epiderme da face adaxial, destacando estômato paracítico (Microscopia fotônica - M.F.);
- 15 - Epiderme da face abaxial em vista frontal, mostrando estômato paracítico (M.F.);
- 16 - Secção transversal do mesofilo, com face adaxial em detalhe (M.F.);
- 17 - Mesofilo em secção transversal, destacando a face abaxial (M.F.);
- 18 - Secção transversal da lâmina foliar, destacando um laticífero (M.F.);
- 19 - Vista geral da nervura central em secção transversal (M.F.);
- 20 - Nervura central em secção transversal, destacando a ocorrência de compostos fenólicos (M.F.);
- 21 - Pormenor da nervura em secção transversal, evidenciando a ocorrência de laticíferos (M. F.);
- 22 - Detalhe de parte do feixe vascular principal em secção transversal. Laticíferos (M.F.).



FIGURAS 23 a 28 - Ontogenia dos laticíferos de *Synadenium grantii* Hook f.

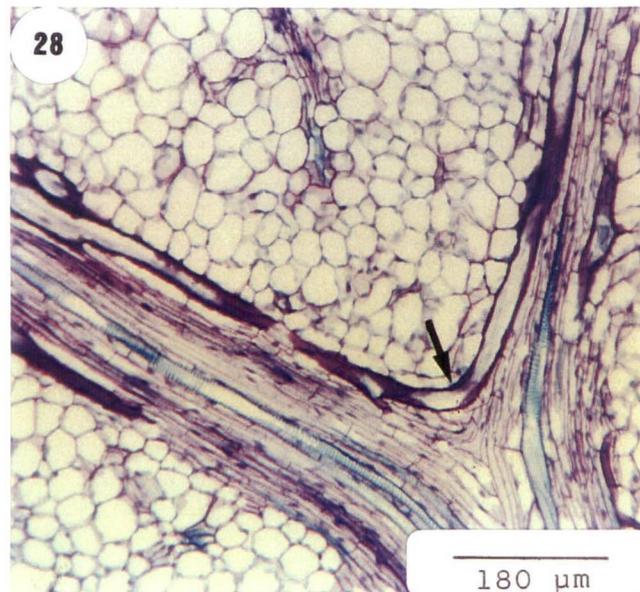
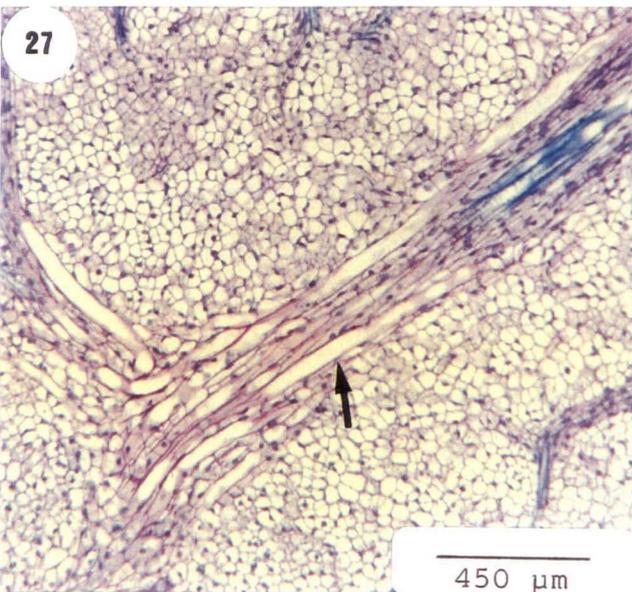
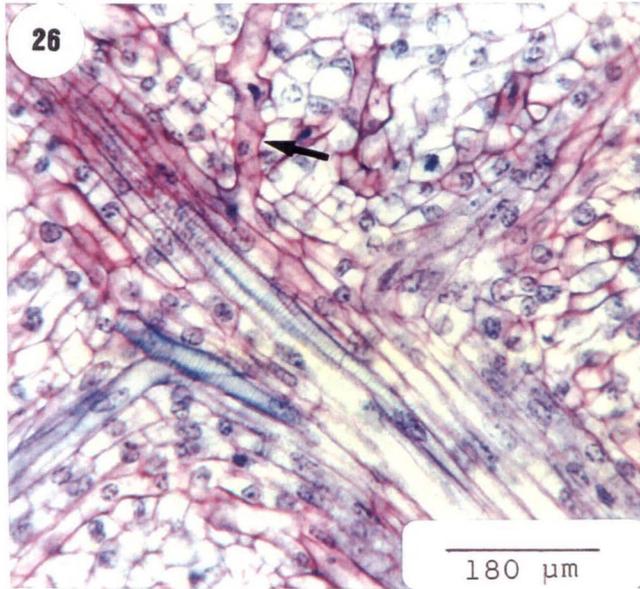
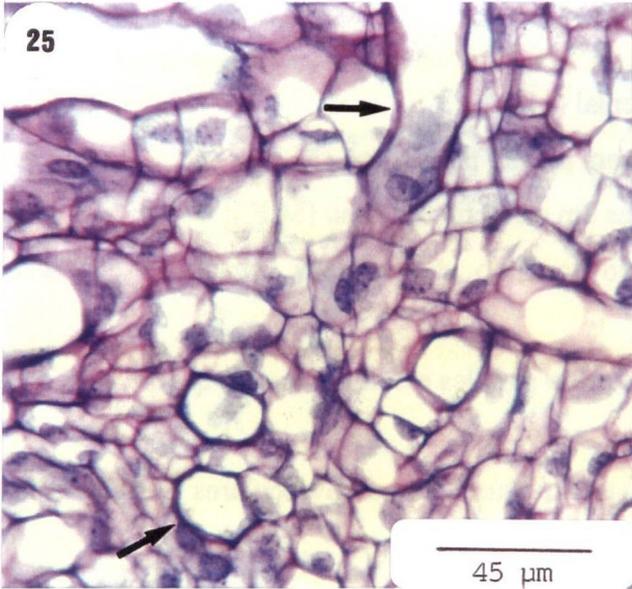
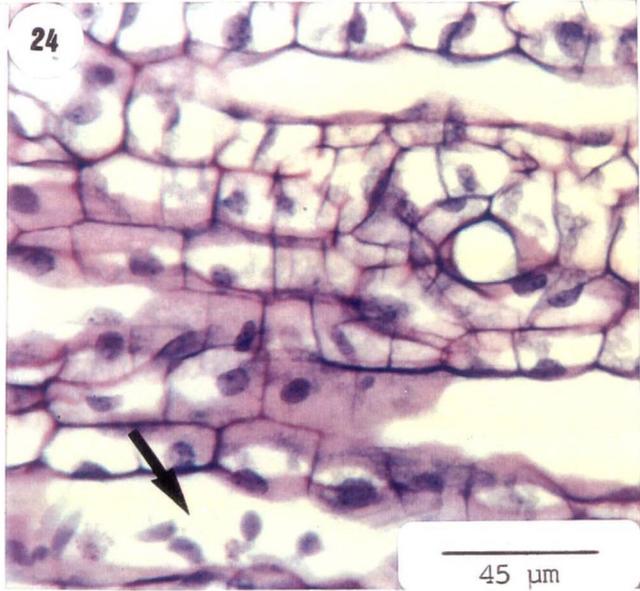
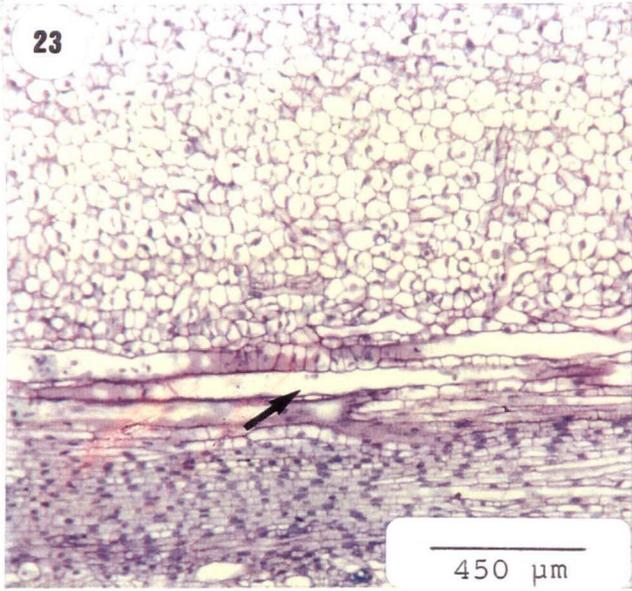
23 - Detalhe de primórdio foliar de gema apical em secção longitudinal, destacando o início de formação dos laticíferos (M.F.);

24 - Detalhe dos laticíferos da fig. anterior, evidenciando células sofrendo lise (M.F.);

25 - Laticíferos em todos os sentidos e direções, em primórdio foliar seccionado longitudinalmente (M.F.);

26 e 27 - Laticíferos associados às nervuras, em folha jovem de ápice caulinar, em secção longitudinal (M.F.);

28 - Secção longitudinal da lâmina foliar de folha adulta, destacando a distribuição dos laticíferos (M.F.).



FIGURAS 29 a 35 - Aspectos do lenho de *Synadenium grantii* Hook f.

29 - Aspectos do lenho, em secção transversal (M.F.);

30 - Vasos múltiplos em disposição radial em secção transversal (M.F.);

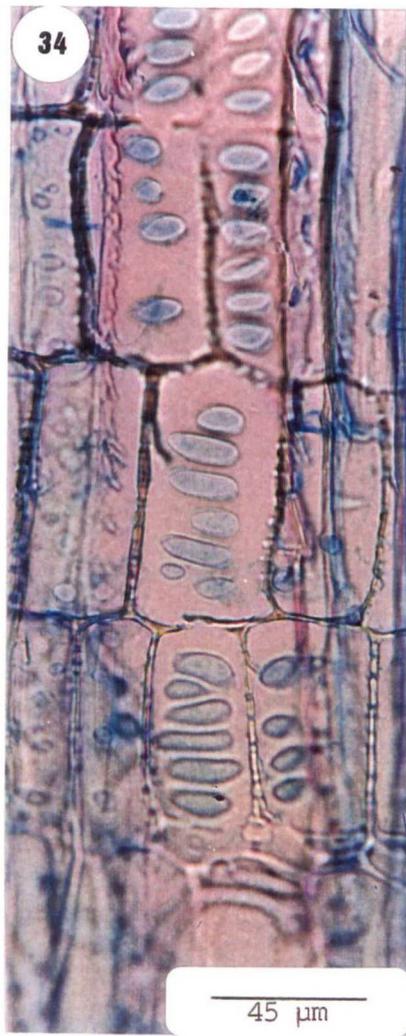
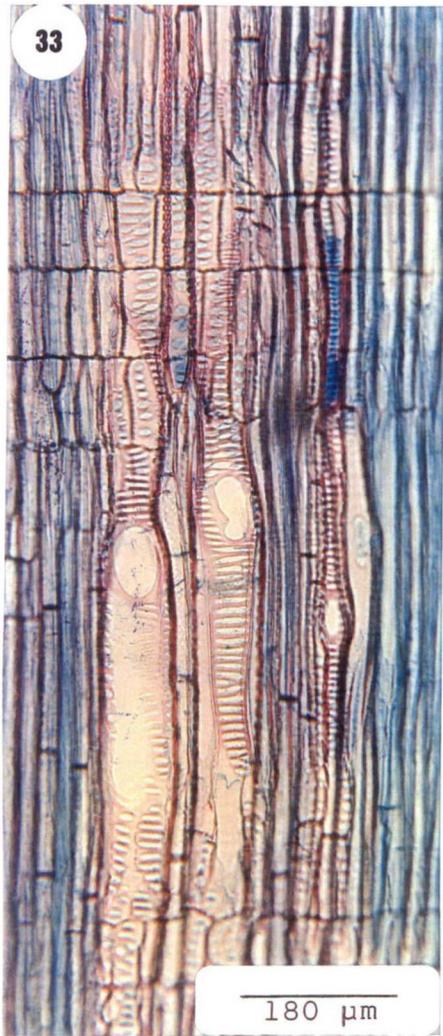
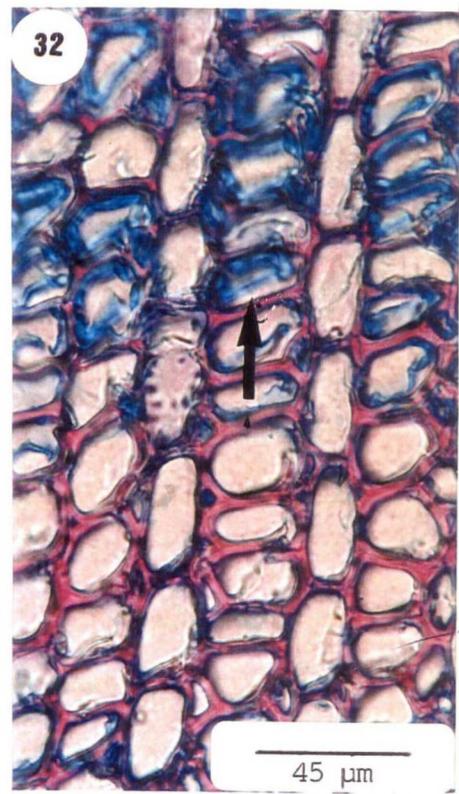
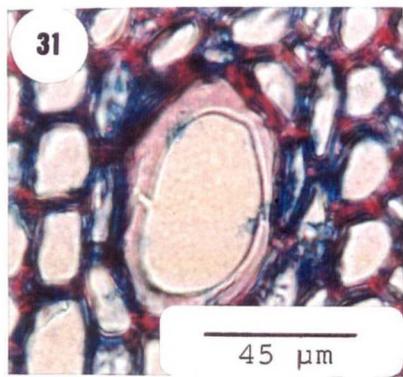
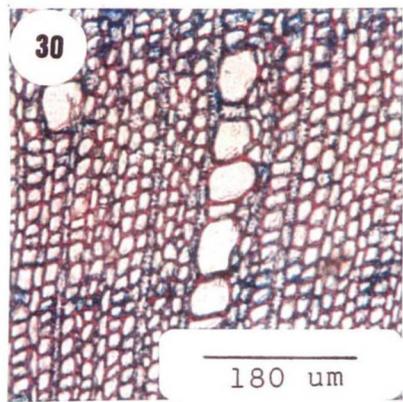
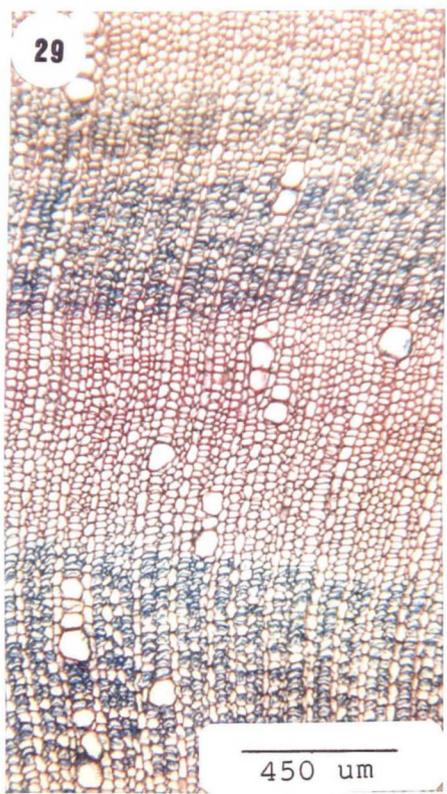
31 - Detalhe de placa de perfuração simples em elemento de vaso (M.F.);

32 - Fibras, evidenciando espessamento terciário de celulose gelatinosa em secção transversal (M.F.);

33 - Elementos de vaso com placa de perfuração simples e células do raio quadradas e eretas em seção longitudinal radial (M.F.);

34 - Detalhe de células do raio, destacando pontoações radiovasculares arredondadas a horizontais em secção longitudinal radial (M.F.);

35- Canais secretores em secção longitudinal radial (M.F.).



FIGURAS 36 a 40 - Detalhes do lenho de *Synadenium grantii* Hook f.

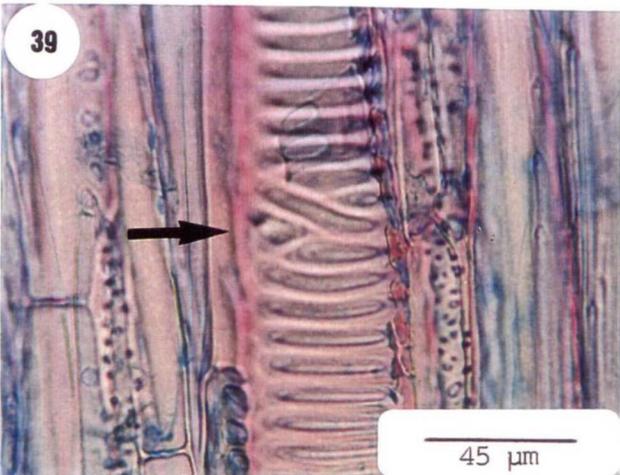
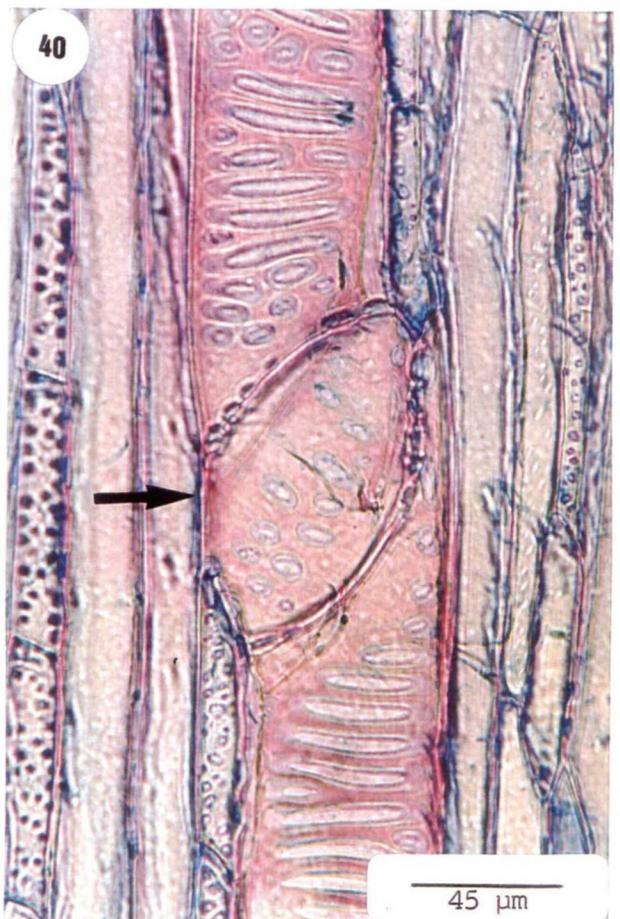
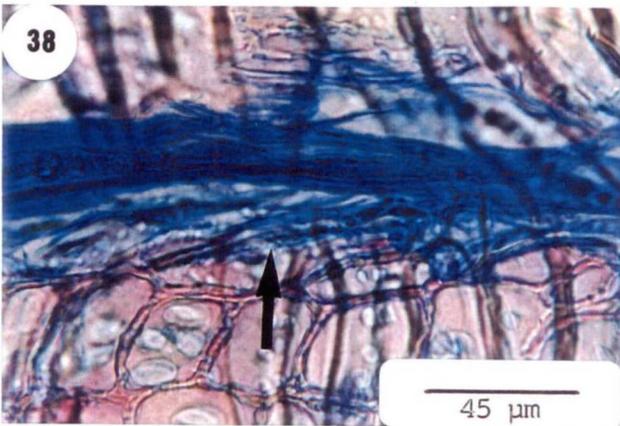
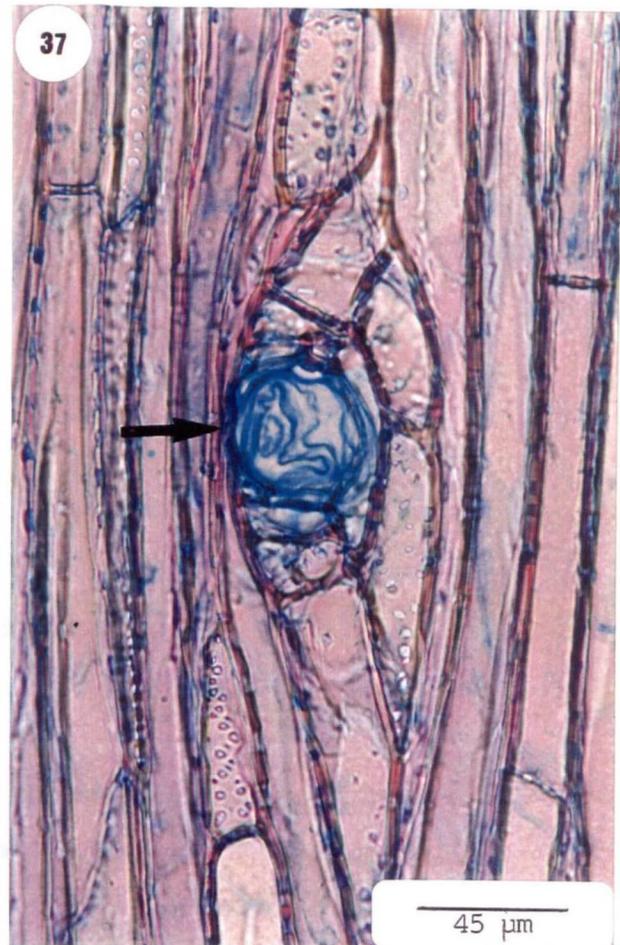
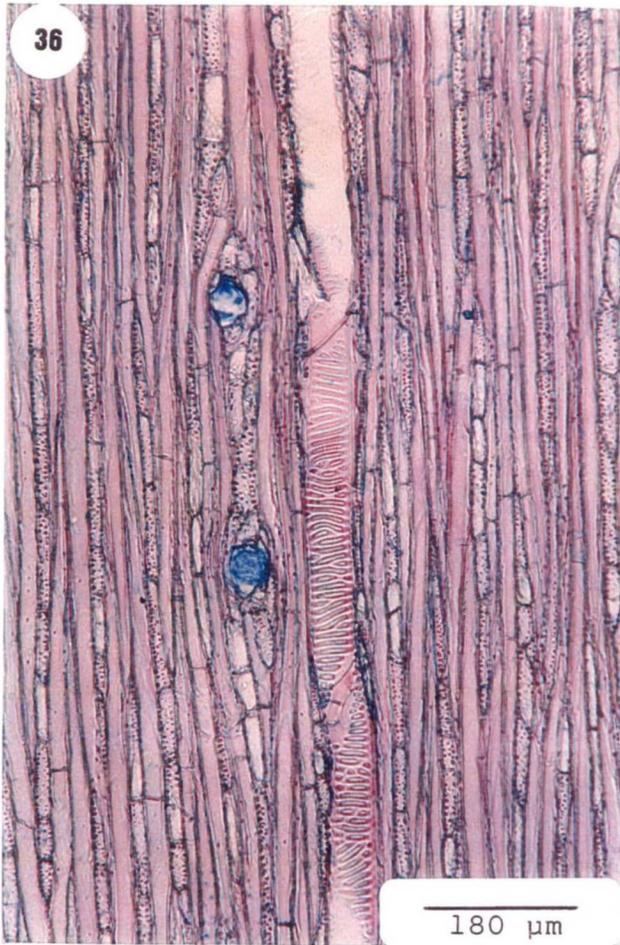
36 - Pontoações intervasculares escalariformes, raios parenquimáticos unisseriados, fibras septadas e canais secretores em secção longitudinal tangencial (M.F.);

37 - Detalhe de canal radial em secção longitudinal tangencial (M.F.);

38 - Detalhe de canal radial em secção longitudinal radial (M.F.);

39 - Pontoações intervasculares escalariformes em detalhe, em secção longitudinal tangencial (M.F.);

40 - Detalhe de uma célula perfurada de raio em secção longitudinal tangencial (M.F.).



FIGURAS 41 a 48 - Elementos condutores e de sustentação do lenho de *Synadenium grantii* Hook f.

41 - Traqueíde em material dissociado (M.F.);

42 - Detalhe de traqueíde, mostrando pontoações areoladas arredondadas (M.F.);

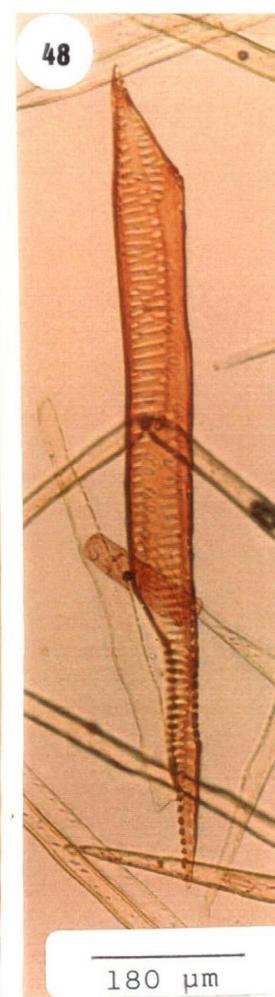
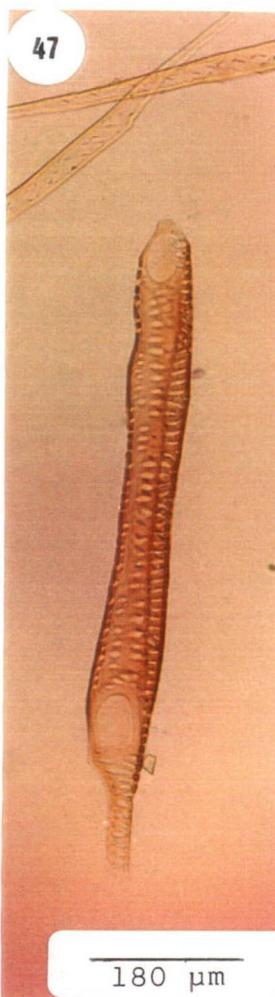
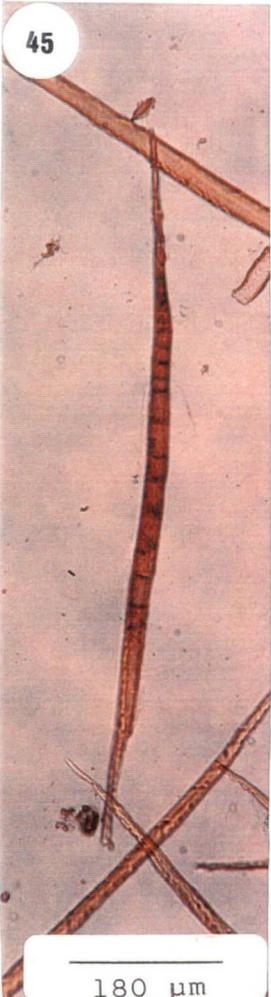
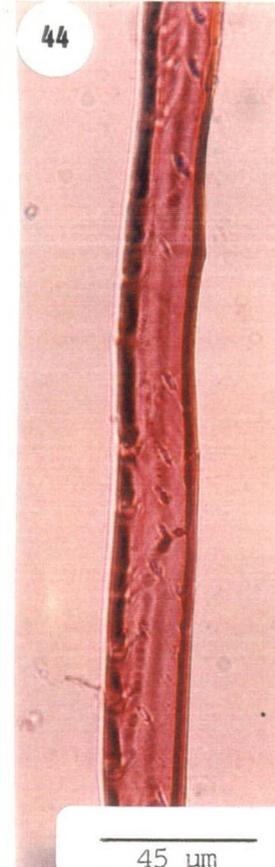
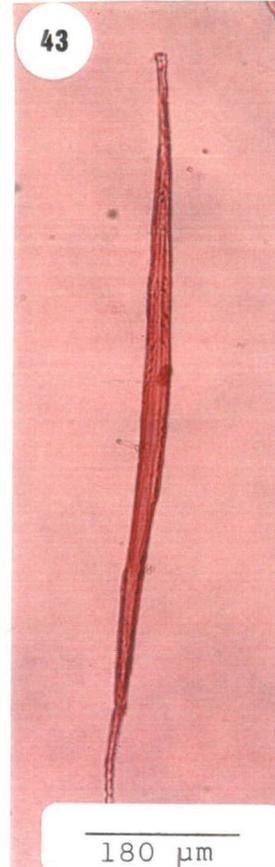
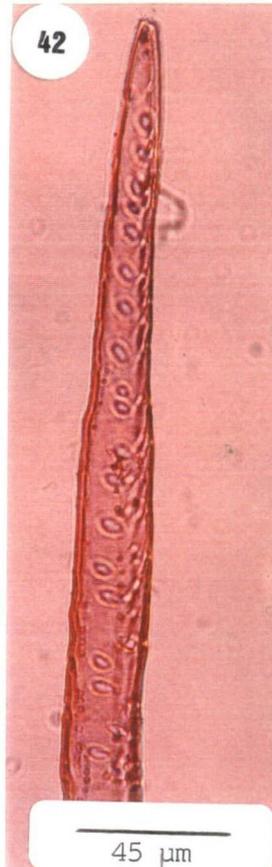
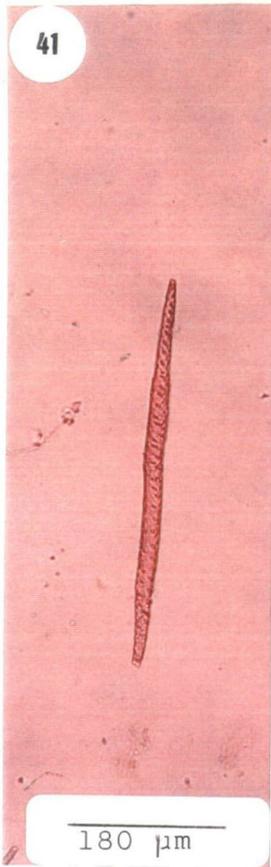
43 - Fibrotraqueíde em material dissociado (M.F.);

44 - Fibrotraqueíde destacando pontoações areoladas com abertura alongada em material dissociado (M.F.);

45 - Fibra septada em material dissociado (M.F.);

46 - Detalhe da fig. anterior (M.F.);

47 e 48 - Elementos de vaso em material dissociado (M.F.).



## 4.2 ESTUDOS FITOQUÍMICOS

### 4.2.1 Triagem fitoquímica

De acordo com MATOS (1988), o roteiro analítico envolvendo determinações qualitativas de extrativos e a verificação de propriedades organolépticas, permitem obter informações úteis para escolha do solvente mais adequado para a futura extração, além de fornecer indicações sobre a ocorrência de constituintes de sabor, odor característico e pH, como pode ser observado na figura 49.

Nos estudos fitoquímicos preliminares de *S. grantii* detectou-se em concentrações significativas no látex: taninos condensados e hidrolisáveis, glicosídeos flavônicos, esteróides e/ou triterpenos; nas folhas: glicosídeos flavônicos, esteróides e/ou triterpenos; nas cascas de caule: taninos condensados e hidrolisáveis, esteróides e/ou triterpenos; na raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; nas cascas de raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; esteróides e ou/triterpenos (fig. 50 e 51).

BOMBARDELLI (1974), isolou três flavonóides de *Synadenium carinatum*. KINGHORN (1980), isolou um éster de forbol, substância irritativa da pele (12-O-tigloil-4-deoxiforbol-13-isobutirato) do látex de *S. grantii*. UZABAKILHO (1987), doseou triterpenos no látex de *S. grantii*, demonstrando que os triterpenos são seus maiores constituintes. BAGAVATHI (1988), isolou cinco diterpenos do látex de *S. grantii*.

RIZK (1987), através de uma revisão química na família Euphorbiaceae detectou compostos como triterpenos, esteróides, flavonóides e taninos, entre outros. O autor comenta que estes compostos estão entre as principais classes de substâncias de interesse fitoquímico.

SCHULTES (1987), cita que cientistas tem demonstrado grande interesse nas substâncias tóxicas nos membros da família Euphorbiaceae, tais como, forbol, resiniferol e ingenol, estes compostos apresentam irritativos da pele e atividades indutoras de tumores. O autor ainda comenta sobre os estudos etnobotânicos realizados com membros desta família, demonstrando sua vasta aplicação na medicina popular.

Na investigação fitoquímica preliminar, este vegetal apresentou compostos como taninos e glicosídeos flavônicos, que ainda não foram relatados pela literatura nesta espécie. Sem deixar de mencionar que os estudos fitoquímicos citados, são na maioria em relação ao

látex, sendo que em todas as partes do vegetal detectou-se a presença de metabólitos secundários de interesse.

#### 4.2.2 Índice de intumescência

As folhas apresentaram uma alto índice de intumescência na preparação do extrato aquoso, por este motivo efetuou-se o teste para verificar o índice de intumescência. As folhas apresentaram um índice de intumescência de 43,2%, demonstrando que esta parte do vegetal aumenta aproximadamente 40 vezes o seu volume quando em contato com a água. Este resultado fornece uma maior segurança na preparação e no acondicionamento deste extrato, evitando assim a perda do material.

<b>Extrato aquoso 20%</b>	<b>Látex</b>	<b>Folhas</b>	<b>Caule</b>	<b>Cascas de caule</b>	<b>Raiz</b>	<b>Cascas de raiz</b>
<b>Cor</b>	leitoso	castanho escuro	amarelo escuro	castanho escuro	marrom escuro	marrom escuro
<b>Sabor</b>	adstringente	adstringente	levemente adstringente	levemente adstringente	madeira	madeira
<b>Odor</b>	inodoro	adocicado	fermentado	inodoro	inodoro	adocicado - levemente adstringente
<b>pH</b>	5.5	5.5	6.0	5.5	5.5	4.5
<b>Extrato hidro-alcólico 20%</b>	<b>Látex</b>	<b>Folhas</b>	<b>Caule</b>	<b>Cascas de caule</b>	<b>Raiz</b>	<b>Cascas de raiz</b>
<b>Cor</b>	leitoso	verde musgo	Amarelo	caramelo	amarelo	caramelo
<b>Sabor</b>	adstringente	adstringente	adstringente	adstringente	mascarado pelo álcool	mascarado pelo álcool
<b>Odor</b>	mascarado pelo álcool	mascarado pelo álcool	mascarado pelo álcool	mascarado pelo álcool	levemente adstringente	amargo - apimentado
<b>pH</b>	5.5	5.5	5.5	5.5	5..5	4.5

**FIGURA 49** - Ensaio preliminares realizados com o látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de *Synadenium grantii* Hook f.

<b>Extrato Aquoso 20%</b>						
<b>Metabólitos Secundários</b>	<b>Látex</b>	<b>Folhas</b>	<b>Caule</b>	<b>Cascas de Caule</b>	<b>Raiz</b>	<b>Cascas de raiz</b>
<b>Glicosídeos Antociânicos</b>	—	—	—	—	—	—
<b>Glicosídeos Saponínicos</b>	—	+	—	+	—	+
<b>Glicosídeos Cianogenéticos</b>	—	—	—	—	—	—
<b>Taninos Condensados</b>	+++	+	—	+++	+++	+++
<b>Taninos Hidrolisáveis</b>	+++	+	—	+++	+++	+++
<b>Aminogrupos</b>	—	+	+	+	—	—
<b>Ácidos Fixos</b>	+	+	+	++	++	+
<b>Ácidos Voláteis</b>	+	+	+	+	+	+

**FIGURA 50** - Investigação química preliminar realizada com o extrato hidroalcolico a 20% do látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de *Synadenium grantii* Hook f.

Legenda:

Ausência de metabólitos secundários ( - );

Traços ( + );

Positivo ( ++ );

Fortemente positivo ( +++ ).

<b>Extrato Hidroalcolico 20%</b>						
<b>Glicosídeos Flavônicos</b>	+++	+++	+	+	+	—
<b>Esteróides e/ou Triterpenos</b>	+++	+++	—	+++	+	+++
<b>Alcalóides</b>	—	—	—	—	—	—
<b>Aminogrupos</b>	—	+	—	—	—	—
<b>Glicosídeos Antraquinônicos</b>	—	—	—	—	—	—
<b>Cumarinas</b>	—	—	—	—	—	+

**FIGURA 51** - Investigação química preliminar realizada com o extrato hidroalcolico a 20% do látex, folhas, caule, cascas de caule, raiz e cascas de raiz de *Synadenium grantii* Hook f.

Legenda:

Ausência de metabólitos secundários (—);

Traços (+);

Positivo (++);

Fortemente positivo (+++).

### 4.3 ESTUDOS FARMACOLÓGICOS

#### 4.3.1 Dose letal 50% (DL<sub>50</sub>)

Para a determinação da DL<sub>50</sub> utilizou-se o extrato bruto aquoso do látex de *Synadenium grantii* (EBS), nas doses entre 25 e 70 mg/kg, administrado por via intraperitoneal (ip) em camundongos fêmeas (n = 6 a 12). A DL<sub>50</sub> foi obtida com a dose de 44,17 mg/kg, no período de 24 horas da administração do extrato pela via ip. O limite inferior de confiança foi de 40,81 mg/kg e o limite superior foi de 47,81 mg/kg. Estes valores foram calculados pelo método estatístico de LITCHFIELD e WILCOXON (1948).

A dose máxima, onde nenhum animal morreu foi de 25 mg/kg e a dose mínima, que promoveu a morte de todos os animais dentro das 24 horas, foi de 70 mg/kg. Não foi possível determinar a DL<sub>50</sub> após a administração do EBS pela via oral (vo), pois nas doses entre 100 e 600 mg/kg foi observada apenas a morte de um animal.

UNNIKRISSNHHNAN *et al.* (1987), determinaram a dose de 51,3 mg/kg para a DL<sub>50</sub> em camundongos com o extrato hidroalcolico do látex de *S. grantii*, pela via ip. Esta DL<sub>50</sub>, descrita na literatura é muito semelhante a obtida na presente pesquisa com o extrato aquoso de *S. grantii* pela via ip, que foi de 44,17 mg/kg.

A DL<sub>50</sub> obtida em camundongos por via ip foi aproximadamente 1000 vezes maior do que a dose utilizada pela população que faz uso deste vegetal para o tratamento de úlcera, e cerca de 340 vezes maior do que a dose utilizada para o tratamento do câncer pelo homem. Portanto, as doses empregadas pela população aparentemente não oferecem riscos de toxicidade (letalidade), exceto naqueles indivíduos hipersensíveis ou que apresentam respostas idiocráticas.

#### 4.3.2 Teste de atividades gerais

A administração do EBS pela via ip nas doses de 30 a 70 mg/kg, produziu nos animais durante a primeira hora após administração do extrato contração do abdômen, sugerindo a ocorrência de dor. Este sintoma foi mais intenso quanto maior a dose administrada. O EBS produziu também, diminuição da motilidade, piloereção e ptose palpebral em todas as doses (25 - 70 mg/kg) administradas. Alguns animais apresentaram

catatonía com as doses de 60 e 70 mg/kg, e alguns perderam a coordenação motora quando receberam a dose de 70 mg/kg.

Após as primeiras quatro horas de observação os animais que receberam a dose de 25 mg/kg também passaram a apresentar contração abdominal, sugerindo a ocorrência de dor. Os sintomas diminuição da motilidade, piloereção e ptose palpebral continuaram a ser apresentados por todos os animais, durante as primeiras seis horas decorrentes da administração do extrato. Todos os animais tratados com doses entre 30 e 70 mg/kg apresentaram alterações respiratórias. Catatonía foi observada em apenas alguns animais tratados com a dose de 60 mg/kg, nas primeiras seis horas de observação. Os animais tratados com 70 mg/kg continuaram apresentando perda de coordenação motora, nas primeiras seis horas de observação.

Transcorridas 24 horas do período da administração do extrato (ip), alguns animais tratados com 30 e 60 mg/kg continuaram apresentando contração abdominal sugerindo a ocorrência de dor. Animais tratados com as doses de 30, 40 e 50 mg/kg apresentaram diminuição da motilidade, piloereção e ptose palpebral, enquanto aqueles que receberam as doses de 40, 50 e 60 mg/kg apresentaram alterações respiratórias. Todos os animais tratados com 70 mg/kg morreram dentro das 24 horas, possivelmente por parada respiratória, já que na biópsia imediata pós morte, o coração continuava mantendo os batimentos.

Após a administração do EBS pela via oral com doses entre 100 e 600 mg/kg, alguns animais apresentaram desde a primeira hora, contração abdominal sugerindo a ocorrência de dor. O EBS produziu também, diminuição da motilidade em alguns animais, tratados com as doses de 300 e 600 mg/kg. Piloereção e ptose palpebral foram observados nos animais tratados com doses de 100 a 600 mg/kg. Alterações respiratórias e diarreia ocorreram nos animais tratados com as doses de 100 e 300 mg/kg. A perda de coordenação motora foi observada em alguns animais tratados com as doses de 300 e de 600 mg/kg. Alguns animais tratados com 600 mg/kg apresentaram catatonía.

No período de três a cinco horas após a administração do EBS pela via oral (100 a 600 mg/kg) os animais apresentaram piloereção, alterações respiratórias e hiperemia. Os animais tratados com 300 e 600 mg/kg apresentaram diminuição de motilidade, até cinco horas após a administração do extrato. Apenas alguns animais tratados com 300 mg/kg continuaram apresentando ptose palpebral. Diarreia foi observada nos animais tratados com 100 e 300 mg/kg. Alguns animais que receberam a dose de 600 mg/kg continuaram apresentando perda da coordenação motora.

Após 24 horas da administração do EBS, todos os animais apresentavam piloereção. Alguns animais apresentaram diminuição de motilidade e ptose palpebral. Alguns animais tratados com 100 mg/kg continuaram apresentando diarreia e perda de coordenação motora, após as primeiras 24 horas.

Os sinais apresentados pelos animais tratados com o extrato aquoso de *S. grantii* por via intraperitoneal e oral (piloereção, contorções abdominais e redução da motilidade), sugerem a ocorrência de dor, que pode estar sendo provocada por ação direta do extrato sobre o peritônio (ip) ou sobre a mucosa gástrica naqueles tratados por vo.

Os demais sintomas observados, indicam ações não específicas impossibilitando a diferenciação entre uma ação sobre o sistema nervoso central ou ações periféricas, entre elas, a dificuldade respiratória e a incoordenação motora.

Para a caracterização das ações do extrato, devem ser realizados estudos mais detalhados com testes quantitativos específicos.

#### 4.3.3 Efeito do extrato bruto aquoso de *Synadenium grantii* (EBS) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol

O pré-tratamento com o EBS nas doses de 0,5 e 2,0 g/kg pela via oral, no modelo de úlcera induzida por etanol 70% (0,5 mL - vo) foi capaz de proteger a mucosa gástrica de ratos, alterando a incidência de úlceras, que foi de  $20,0 \pm 4,45$  no grupo controle, para  $5,25 \pm 1,88$  com a dose de 0,5 g/kg e para  $2,4 \pm 0,75$  com a dose de 2,0 g/kg. O índice de lesão foi alterado apenas com a dose de 2,0 g/kg - vo (Controle  $3,0 \pm 0,41$ ; EBS  $4,66 \pm 0,21$ ). O índice total de lesão da mucosa gástrica também foi alterado com as doses de 0,5 g/kg ( $7,8 \pm 2,18$ ) e 2,0 g/kg ( $7,2 \pm 0,66$ ) em relação ao grupo controle ( $23,75 \pm 4,03$ ), conforme figura 52 e tabela 1 do anexo 2.

O extrato bruto aquoso do látex de *S. grantii* (EBS) exerceu ação protetora da mucosa gástrica contra lesões induzidas pelo etanol, um agente químico de ação direta necrosante que danifica a barreira de muco e inibe o transporte ativo de íons (HIRSCHOITZ, 1993). Segundo GLAVIN *et al.* (1992), os mecanismos de defesa da mucosa gástrica estão relacionados com a permeabilidade da membrana e da junção intracelular que funcionam como barreira protetora, impedindo a passagem dos agentes lesivos presentes no estômago. Como o extrato impediu os efeitos lesivos do álcool, podemos sugerir que o extrato apresenta uma ação citoprotetora ou de “barreira mecânica”,

auxiliando na manutenção da integridade do muco e desta forma, impedindo o aumento da permeabilidade da membrana, a alteração do fluxo sanguíneo e da microcirculação local, que segundo SZABO (1991) e GOODMAN e GILMAN'S (1996), são de fundamental importância na manutenção da integridade da mucosa ou ainda, impedindo o transporte ativo de íons e o contato de substâncias contidas no estômago, que pode ocorrer através da interação de componentes do extrato com o álcool.

O efeito protetor da mucosa gástrica pelo EBS foi observado com as doses de 0,5 e 2,0 g/kg mas não com a dose de 1,0 g/kg. Este resultado pode ser devido a ação de compostos diferentes presentes na mistura complexa de substâncias químicas do extrato bruto ou pela dificuldade de dissolução do látex nas diferentes diluições utilizadas.

#### 4.3.4 Efeito do EBS sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina

No modelo de lesão gástrica induzida por indometacina (10,0 mg/kg - *sc*), o pré-tratamento em ratos com o EBS nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 mg/kg por via oral, alterou o índice de úlceras para  $39,6 \pm 2,50$ ;  $37,5 \pm 2,06$  e  $46,0 \pm 1,47$ , respectivamente, quando comparados ao grupo controle ( $30,5 \pm 1,04$ ). O mesmo ocorreu com o índice total, quando da administração com as doses de 0,5 g/kg ( $44,0 \pm 2,45$ ) e 2,0g/kg ( $50,75 \pm 1,31$ ), em relação ao grupo controle ( $35,0 \pm 1,29$ ). O índice de lesões não foi alterado com a administração do EBS (fig. 53 e tabela 2 do anexo 2).

O EBS nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/kg aumentou o número de úlceras induzidas pelo antiinflamatório não esteroide indometacina (NSAIDs). Sabe-se que a inibição da síntese de Prostaglandinas (PGs) promovidas pelos NSAIDs (SZABO *et al*, 1986), por alterarem as propriedades e quantidade de muco e bicarbonato secretados, além de alterarem significativamente a circulação sanguínea da mucosa gástrica (SZABO, 1991), levam a lesões severas da mucosa. O tratamento com o EBS que supostamente deveria reduzir o número de lesões por promover proteção, razão pela qual é utilizado pela população, ao contrário, incrementou o número e a severidade das lesões. Estes resultados sugerem que o extrato pode estar interferindo de forma a aumentar a secreção ácida levando assim, ao desequilíbrio entre os componentes protetores e agressores da mucosa gástrica, acentuando desta forma o efeito lesivo promovido pela indometacina.

#### 4.3.5 Efeito do EBS sobre as lesões gástricas induzidas por estresse

O tratamento dos animais (ratos) com o EBS nas doses de 1,0 e 2,0 mg/kg por via oral uma hora antes da imobilização e contenção à frio (4°C) por 3 horas, alterou o índice de lesão de  $3,60 \pm 0,24$  no grupo controle para  $4,80 \pm 0,20$  e  $4,60 \pm 0,24$  respectivamente. A administração do EBS não foi capaz de alterar os índices de úlcera e índice total (fig. 54 e tabela 3 do anexo 2).

O índice de lesões menos severas como edema, petéquias, hemorragias e perda de pregas promovidas pelo estresse foi aumentado pelo tratamento prévio dos animais com o EBS nas doses de 1,0 e 2,0 g/kg. Na lesão promovida pelo estresse existe a participação significativa de fatores do Sistema Nervoso Central (SNC) que influenciam as secreções gástricas mediadas principalmente pela atividade vagal, envolvendo o neurotransmissor acetilcolina (KITAGAWA *et al.*, 1979; KAJIMURA *et al.*, 1992), além das ações sobre a microcirculação da mucosa gástrica que levam a isquemia e da elevação do suco gástrico (PACHALY *et al.*, 1993). Estas ações, que são consideradas patogênicas distintas na lesão induzida por estresse (BRODIE *et al.*, 1962; MURAKAMI *et al.*, 1985), e que levam a lesões na parede da mucosa gástrica (AL - YAHIA, 1990), foram exacerbadas em intensidade e em número pelo tratamento prévio com o EBS. Podemos sugerir portanto que o EBS esteja interferindo de forma a elevar os níveis de secreção ácida gástrica, reforçando aqueles resultados obtidos com a metodologia de indução de lesões gástricas pela indometacina, que já sugeriam um desequilíbrio entre os elementos agressores e protetores da mucosa gástrica. Para esclarecer os fatores envolvidos nesta ação, faz-se necessária a utilização de testes mais específicos.

#### 4.3.6 Efeito do EBS sobre a secreção ácida gástrica em ratos piloro-ligado

A administração do EBS pela via intraduodenal, alterou a acidez total do conteúdo gástrico com as doses de 0,5; 1,0 e 2,0 g/kg ( $0,07 \pm 0,01$ ;  $0,08 \pm 0,01$ ; e  $0,08 \pm 0,01$  mEq[H<sup>+</sup>]/mL, respectivamente), quando comparados ao grupo controle ( $0,04 \pm 0,05$  mEq[H<sup>+</sup>]/mL). O volume total, os níveis de pH e a atividade péptica da secreção gástrica (4 horas após a ligadura do piloro) não foram alterados com a administração do EBS (figs. 55, 56, 57 e 58 e tabela 4 do anexo 2).

O fato de que a administração do EBS nas doses de 0,5; 1,0; e 2,0 g/kg pela via intraduodenal aumentou a acidez total do conteúdo gástrico, mas não alterou o volume, o pH e a atividade péptica desta secreção, sugere que o EBS pode estar aumentando a acidez total do conteúdo gástrico através da estimulação dos receptores presentes na célula parietal (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990). Esta ação do EBS pode estar ocorrendo via receptores histaminérgicos ( $H_2$ ) aumentando a disponibilidade de AMPc intracelular, via receptores de gastrina (CCKb), elevando a liberação de histamina ou agindo sobre os receptores CCKb da célula parietal, ou sobre os receptores muscarínicos ( $M_3$ ) elevando a concentração de íons  $Ca^{2+}$  intracelular, ou ainda reduzindo a liberação de somatostatina (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990). Não podemos também descartar a hipótese de que o EBS possa estar atuando sobre as células tipo enterocromafins (ECL), promovendo o aumento da liberação de histamina (SOLL *et al.*, 1988), ou que o extrato possa alterar a disponibilidade de segundos mensageiros intracelulares como o  $Ca^{2+}$  e o AMPc, ou também, que o EBS tenha uma ação direta sobre a bomba de prótons  $H^+/K^+$ /ATPase na célula parietal (RABON e REUBEN, 1990; SEDERBERG *et al.*, 1989). Para esclarecer a ação do EBS e conhecer a via através da qual o EBS está promovendo a estimulação ácida gástrica, devem ser realizados testes farmacológicos com os tratamentos específicos utilizando-se estimulantes e bloqueadores dos receptores responsáveis pela regulação da secreção ácida gástrica. Além disso, os testes devem ser realizados com frações mais purificadas do extrato do látex de *S. grantii*, procurando evitar as interferências e interações das diferentes substâncias que formam o complexo do extrato bruto.

#### 4.3.7 Efeito do EBS no tratamento crônico realizado durante 15 dias em ratos

A administração do EBS nas doses de 0,0425 g/kg (DT); 0,425 g/kg (DT<sub>10</sub>); e 0,85 g/kg (DT<sub>20</sub>) durante 15 dias alterou o índice de lesão de forma dose dependente ( $3,40 \pm 0,24$ ;  $3,75 \pm 0,25$  e  $4,00 \pm 0,00$ , respectivamente) em relação ao grupo controle ( $2,33 \pm 0,33$ ). Não foram observadas lesões severas (úlceras) na mucosa gástrica após o tratamento com o EBS, logo o índice total é igual ao índice de lesões (fig. 59 e tabela 5 do anexo 2).

O tratamento crônico durante 15 dias com o EBS nas doses de 0,0425 mg/kg (DT); 0,425 mg/kg (DT<sub>10</sub>); e 0,85 mg/kg (DT<sub>20</sub>) por via oral promoveu o aumento de lesões leves, tais como hemorragia, edemas, perda de pregas, descoloração e petéquias sobre a mucosa

gástrica, quantificadas segundo a tabela de indução de lesões gástricas em ratos (GLAVIN *et al.*, 1992).

Segundo GOODMAN e GILMAN'S (1996), as prostaglandinas (PGs) agem diminuindo a acidez e o volume da secreção gástrica, são vasodilatadoras e regulam o fluxo sangüíneo na mucosa, aumentam a secreção de muco no estômago e impedem a lesão gástrica causada por vários agentes ulcerogênicos, promovendo a cicatrização de úlceras duodenais e estomacais. A indução de lesões pelo extrato, sugere que este possa estar atuando através da inibição da síntese de Prostaglandinas (PGs), diminuindo a barreira protetora da mucosa gástrica constituída de muco e bicarbonato, ou estar interferindo na microcirculação gástrica.

O EBS pode ainda estar promovendo o desequilíbrio entre os fatores protetores e agressores, através do aumento da secreção ácida gástrica, observado pelo aumento da acidez total através do método da ligadura pilórica. Este desequilíbrio pode estar ocorrendo via aumento de secreção de gastrina, histamina e tônus parasimpático ou inibição da secreção de somatostatina, pois de acordo com GLAVIN *et al.* (1992), a manutenção do fluxo sangüíneo e o balanço ácido-básico são mecanismos responsáveis pela proteção subpitelial da mucosa gástrica.

Além disso, o vegetal *S. grantii* apresenta no látex um princípio irritativo denominado 12-O-tigloil-4-deoxiforbol-13-isobutirato (éster de forbol), que em contato com a pele provoca lesões tais como ardor, vermelhidão e necrose tecidual (BAGAVATHI *et al.*, 1988). A presença desta substância irritativa no látex da planta pode ser responsável por uma ação semelhante sobre o epitélio que reveste o trato gastrointestinal, quando a barreira protetora de muco é danificada.

Figura 52 - Efeito do extrato bruto aquoso do látex de *Synadenium grantii* Hook f. (EBS) administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por etanol 70%, em ratos (n = 6), onde o índice de lesões (A), o índice de úlcera (B) e o índice total (C), representam os valores obtidos através da tabela de pontuação para lesões. Estes resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias.

p<0.05 e \*\*p<0.01 em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

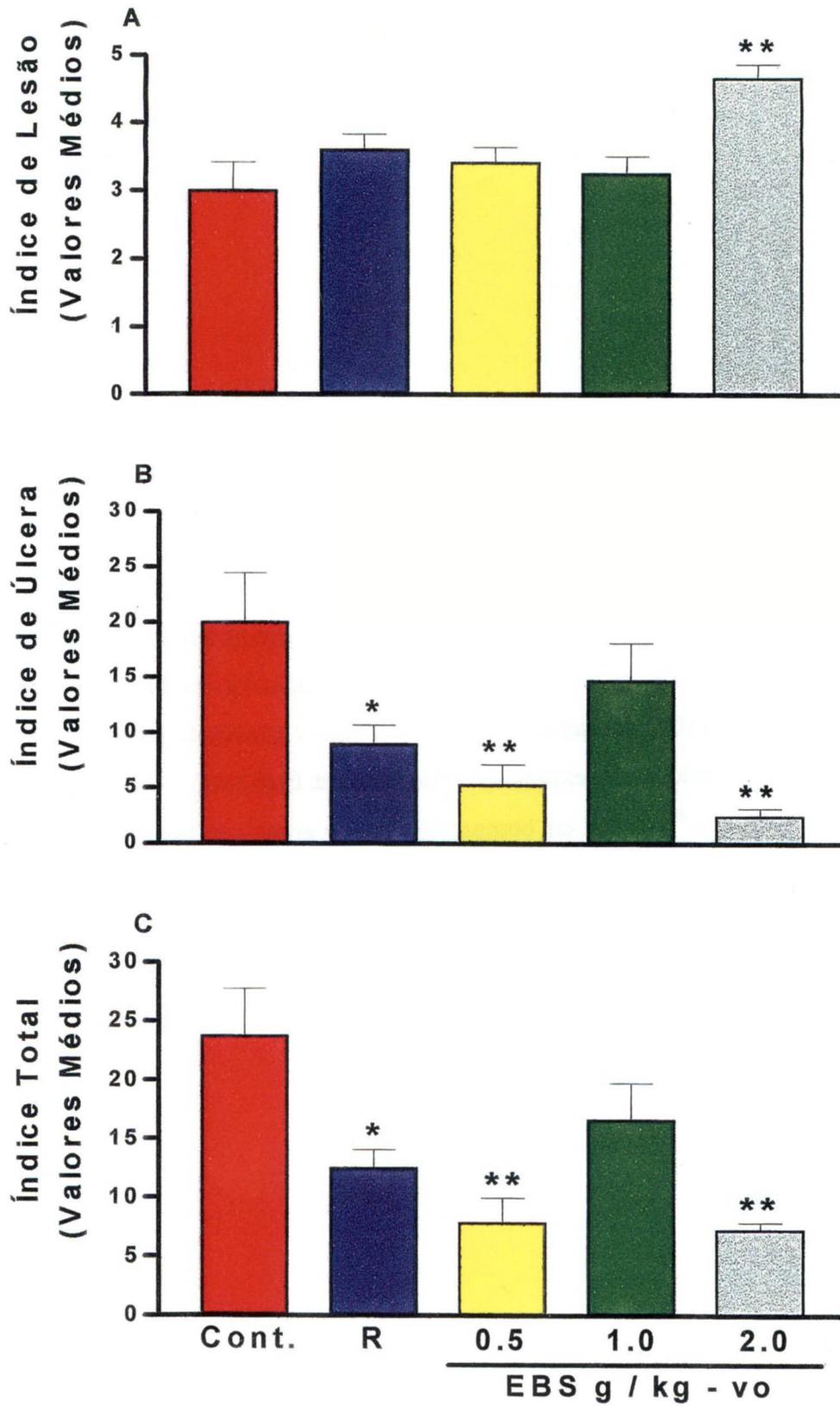


FIGURA 52

Figura 53 - Efeito do EBS administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina 10 mg/kg - sc, em ratos (n = 6), onde o índice de lesões (A), o índice de úlcera (B) e o índice total (C), representam os valores obtidos através da tabela de pontuação para lesões. Estes resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias.  $p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  e  $^{\#} p < 0.001$  em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

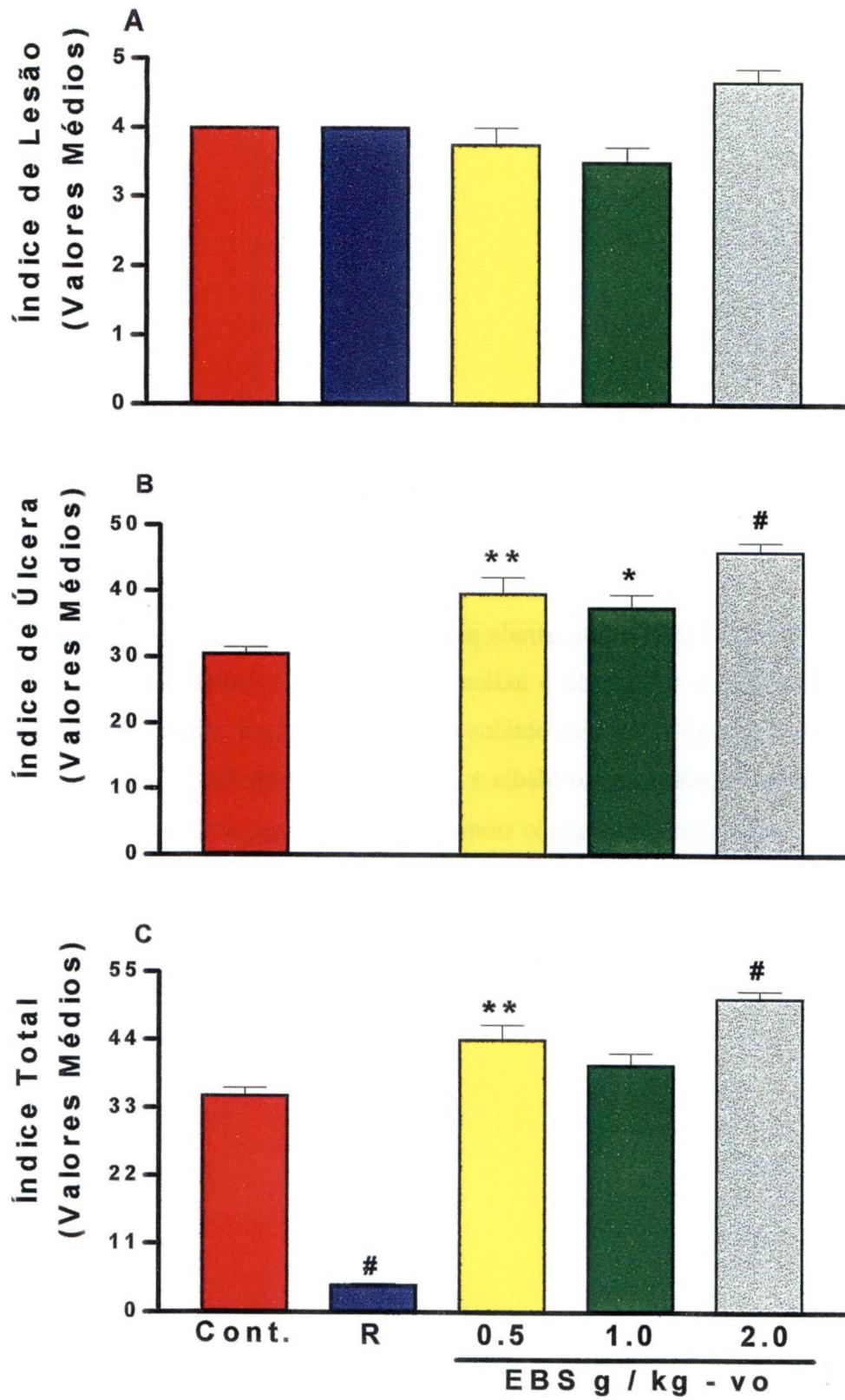


FIGURA 53

Figura 54 - Efeito do EBS administrado pela via oral, sobre as lesões gástricas induzidas por estresse, em ratos ( $n = 6$ ), onde o índice de lesões (A), o índice de úlcera (B) e o índice total (C), representam os valores obtidos através da tabela de pontuação para lesões. Estes resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias.

$p < 0.05$  em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

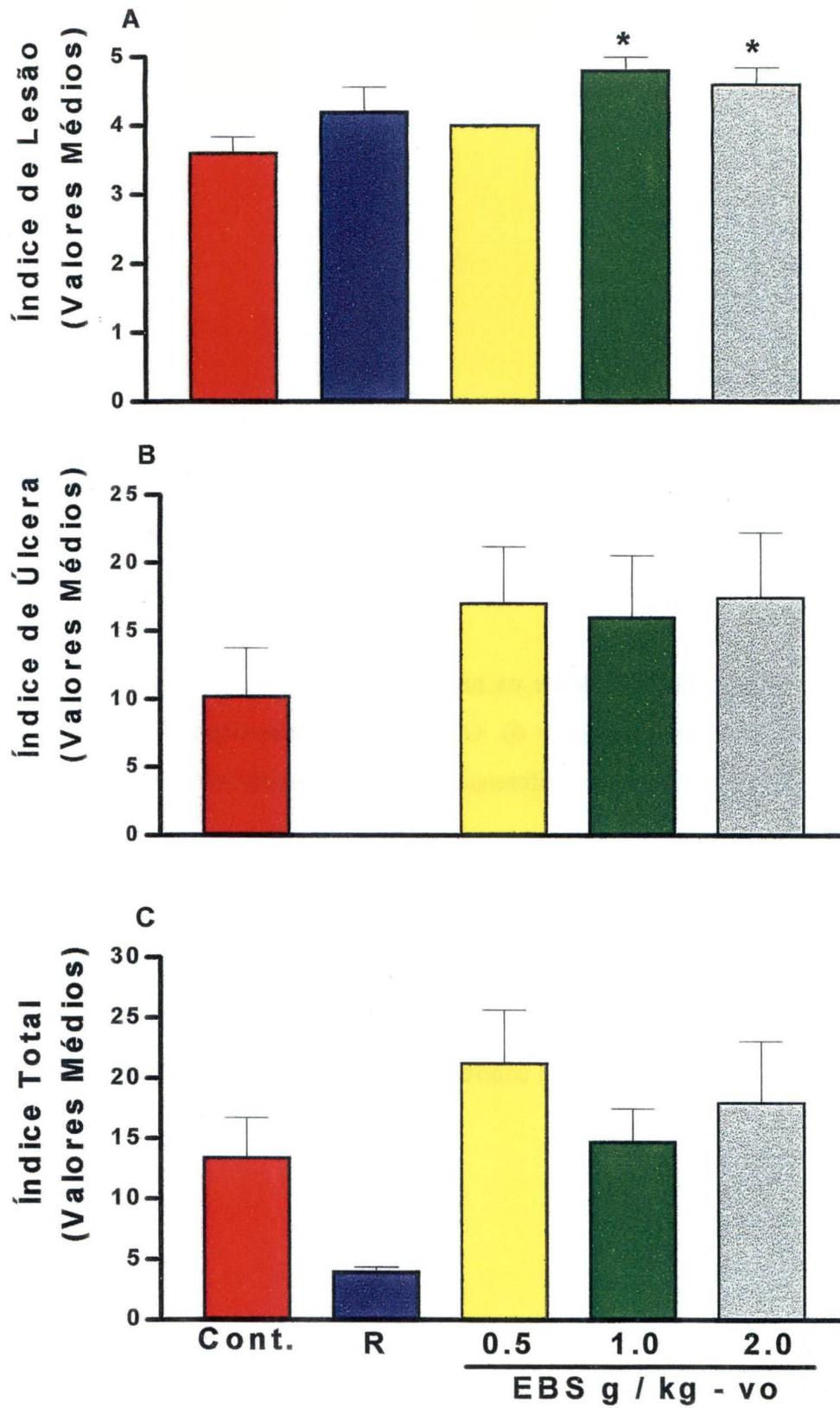


FIGURA 54

Figura 55 - Efeito do EBS sobre o volume total da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos (n = 6). Os resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias. Não houve diferença entre os grupos tratados (ANOVA seguido de “t” de Student);

Figura 56 - Efeito do EBS sobre os níveis de pH da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos (n = 6). Os resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias. Não houve diferença entre os grupos tratados (ANOVA seguido de “t” de Student);

Figura 57 - Efeito do EBS sobre acidez total da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos (n = 6). Os resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias.

\* $p < 0.05$  em comparação ao grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

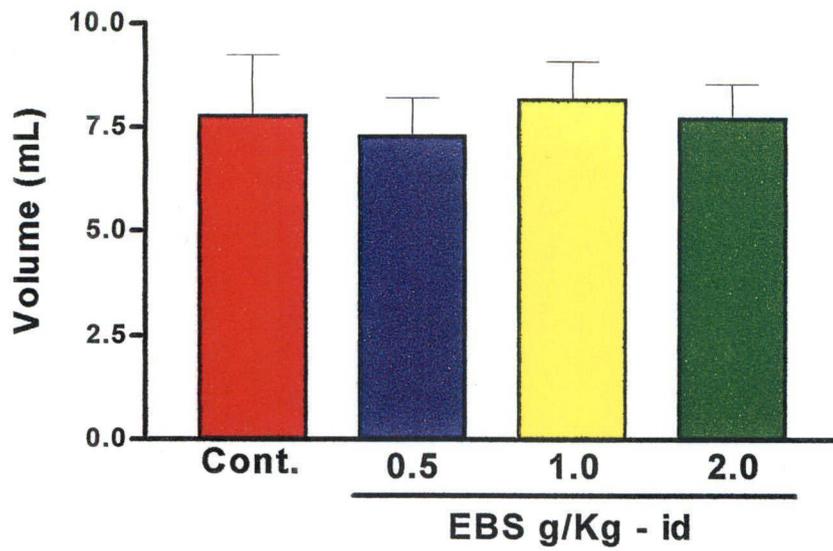


FIGURA 55

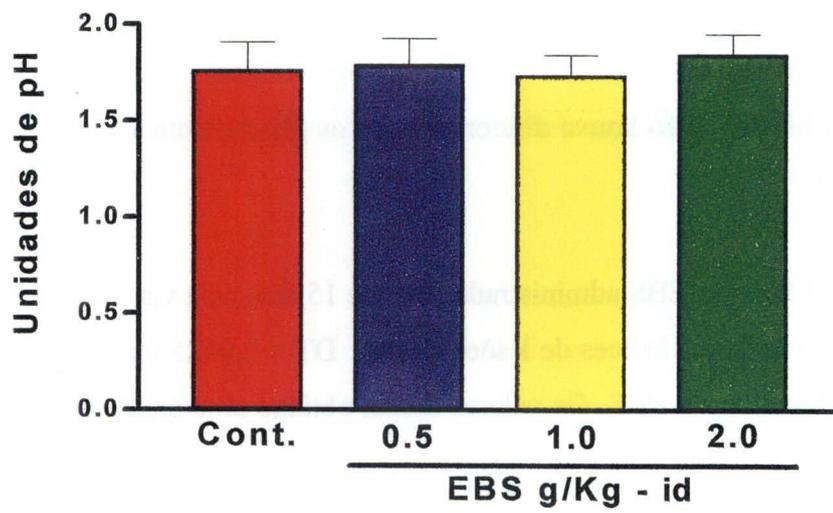


FIGURA 56

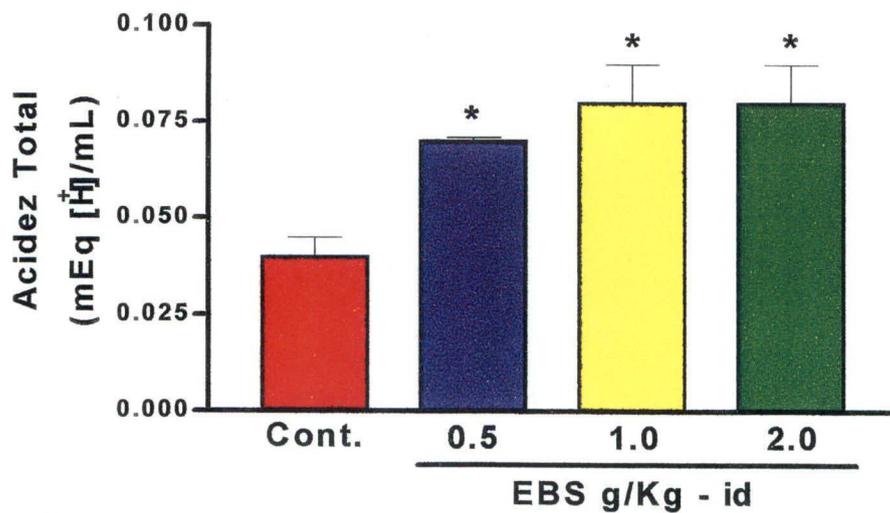


FIGURA 57

Figura 58 - Efeito do EBS sobre a atividade péptica da secreção gástrica 4 horas após a ligadura do piloro em ratos (n = 6). Os resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias. Não houve diferença entre os grupos tratados (ANOVA seguido de “t” de Student);

Figura 59 - Efeito do EBS administrado durante 15 dias pela via oral, em ratos (n = 6), onde estão representados os índices de lesões e total. DT = 0,0425 mg/kg; DT<sub>10</sub> = 0,425 mg/kg e DT<sub>20</sub> = 0,85 mg/kg do EBS. Os valores foram obtidos através da tabela de pontuação para lesões. Estes resultados estão expressos como Média  $\pm$  Erro Padrão das Médias.

\*\* p<0.01 em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

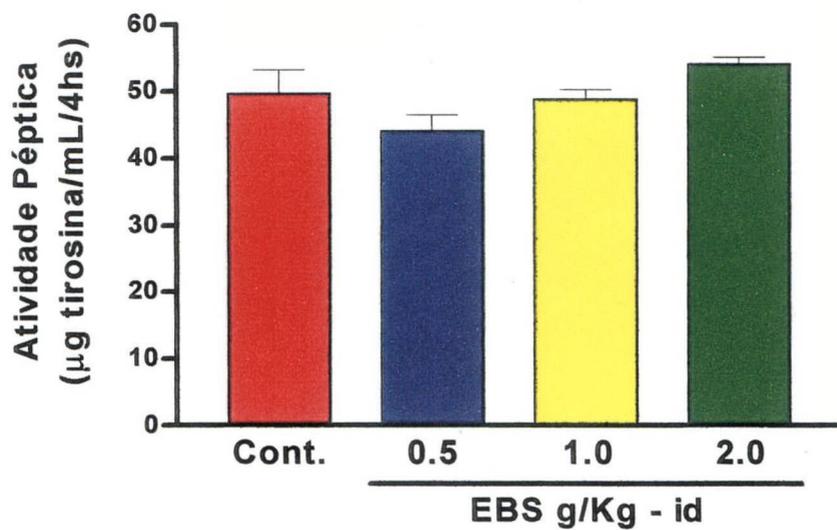


FIGURA 58

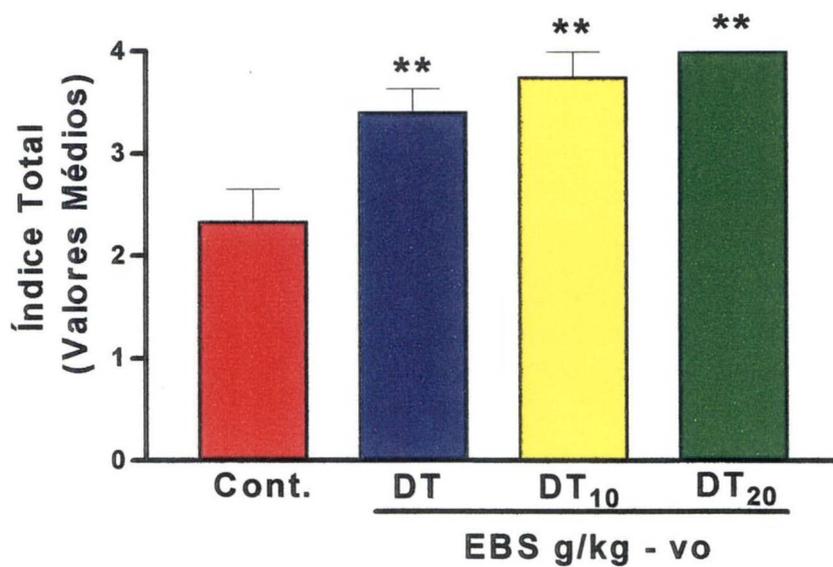


FIGURA 59

## 5 CONCLUSÕES

Através dos estudos anatômicos, conclui-se que espécie *Synadenium grantii* Hook f. apresenta características freqüentes na família Euphorbiaceae:

a) As folhas apresentam venação reticulada, camptódroma, eucamptódroma; a epiderme é unisseriada, as células da face abaxial são ligeiramente papilosas, depósitos de cera epicuticular são freqüentes em ambas as faces; a folha é anfi-hipoestomática com complexo estomático do tipo paracítico; a lâmina foliar apresenta mesofilo dorsiventral; tricomas tectores simples ocorrem apenas nos bordos foliares; o feixe vascular da nervura principal é do tipo colateral; em toda a extensão da lâmina foliar ocorrem idioblastos portadores de compostos fenólicos; laticíferos articulados ocorrem em grande quantidade nas regiões externas ao floema, e em menor quantidade por todo o mesofilo;

Sugere-se uma reavaliação do gênero *Synadenium* quanto a sua classificação na subfamília Euphorbioideae, já que o mesmo possui laticíferos articulados;

Recomenda-se estudos mais acurados referentes a ontogenia dos laticíferos presentes na família Euphorbiaceae, pois os mesmos apresentam grande relevância na taxonomia;

b) O lenho apresenta camadas de crescimento indistintas; porosidade difusa; vasos solitários a múltiplos radiais; placa de perfuração simples; pontoações intervasculares escalariformes; parênquima axial difuso em agregados; parênquima paratraqueal escasso; raios parenquimáticos unisseriados com células quadradas e eretas; pontoações radiovasculares arredondadas a horizontais; células perfuradas de raio; traqueídes; fibrotraqueídes; fibras septadas; fibras gelatinosas; canais secretores;

*S. grantii* apresenta em grande quantidade no látex: taninos condensados e hidrolisáveis; glicosídeos flavônicos; esteróides e/ou triterpenos; nas folhas: glicosídeos flavônicos; esteróides e/ou triterpenos; nas cascas de caule: taninos condensados e hidrolisáveis; esteróides e/ou triterpenos; raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; cascas de raiz: taninos condensados e hidrolisáveis; esteróides e ou/triterpenos;

O extrato aquoso das folhas de *S. grantii* apresenta um alto índice de intumescência;

A dose do extrato aquoso bruto do látex de *Synadenium grantii* (EBS), utilizada pela população para os tratamentos de úlcera e câncer aparentemente não apresentam riscos elevados de toxicidade (letalidade);

O EBS potencializou as ações lesivas induzidas pelo antiinflamatório não esteroidal indometacina e por estresse, mas protegeu contra lesões gástricas promovidas pelo etanol, indicando que o extrato apresenta uma ação citoprotetora (proteção mecânica);

O EBS aumentou a acidez total do conteúdo gástrico, sugerindo que o extrato pode provocar danos à mucosa gástrica;

O tratamento crônico (15 dias) com doses do EBS semelhante aquelas utilizadas pela população, produziu na mucosa gástrica de ratos lesões leves (edema, descoloração, perda de pregas, hemorragia e petéquias);

Apesar do EBS apresentar baixo índice de letalidade, o seu uso pela população com indicação antiulcerogênica, não pode ser comprovado cientificamente. Os resultados apresentados nesta dissertação, evidenciam o risco de que o extrato possa promover lesões gástricas;

Conclui-se que os ensaios fitoquímicos devem estar sempre associados aos estudos farmacológicos e botânicos;

Sugere-se que os estudos sobre a espécie *S. grantii* continuem abrangendo os aspectos anatômicos, fitoquímicos e farmacológicos.

**ANEXO 01 - TABELAS DOS RESULTADOS FARMACOLÓGICOS**

## 1 Resultados Farmacológicos

Os resultados das tabelas 1 a 5 foram expressos como Médias  $\pm$  Erro Padrão das Médias e representam os valores obtidos pela aplicação da tabela de pontuação para lesões. O teste "t" não pareado foi utilizado para detectar diferenças significativas e a análise da variância (ANOVA) para verificar a correlação entre os grupos.

Tabela 1: Efeito do extrato bruto aquoso do látex de *Synadenium grantii* Hook f. (EBS) administrado por via oral sobre as lesões gástricas induzidas pelo Etanol 70% 0,5 mL, em ratos

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE LESÃO	ÍNDICE DE ÚLCERA	ÍNDICE TOTAL
Água (5,0 mL/kg-vo)	3,00 $\pm$ 0,41	20,00 $\pm$ 4,45	23,75 $\pm$ 4,03
Ranitidina (60,0 mg/kg-vo)	3,60 $\pm$ 0,24	9,00 $\pm$ 1,73*	12,50 $\pm$ 1,55*
EBS (0,5 g/kg-vo)	3,40 $\pm$ 0,24	5,25 $\pm$ 1,88**	7,80 $\pm$ 2,18**
EBS (1,0 g/kg-vo)	3,25 $\pm$ 0,25	14,75 $\pm$ 3,40	16,60 $\pm$ 3,18
EBS (2,0 g/kg-vo)	4,66 $\pm$ 0,21**	2,40 $\pm$ 0,75**	7,20 $\pm$ 0,66**

\*  $p < 0.05$  e \*\* $p < 0.01$  em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de "t" de Student).

n = 6

Tabela 2: Efeito do EBS sobre as lesões gástricas induzidas por Indometacina 10 mg/kg - sc, em ratos

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE LESÃO	ÍNDICE DE ÚLCERA	ÍNDICE TOTAL
Água (5,0 mL/kg-vo)	4,00 $\pm$ 0,00	30,50 $\pm$ 1,04	35,00 $\pm$ 1,29
Ranitidina (60,0 mg/kg-vo)	4,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	4,40 $\pm$ 0,24 <sup>#</sup>
EBS (0,5 g/kg-vo)	3,75 $\pm$ 0,25	39,60 $\pm$ 2,50 **	44,00 $\pm$ 2,45 **
EBS (1,0 g/kg-vo)	3,50 $\pm$ 0,22	37,50 $\pm$ 2,06 *	40,00 $\pm$ 1,92
EBS (2,0 g/kg-vo)	4,66 $\pm$ 0,21	46,00 $\pm$ 1,47 <sup>#</sup>	50,75 $\pm$ 1,31 <sup>#</sup>

\*  $p < 0.05$  , \*\* $p < 0.01$  e <sup>#</sup> $p < 0.001$  em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de "t" de Student).

n = 6

Tabela 3: Efeito do EBS administrado via oral sobre as lesões gástricas induzidas por Estresse em ratos

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE LESÃO	ÍNDICE DE ÚLCERA	ÍNDICE TOTAL
Água (5,0 mL/kg-vo)	3,60 ± 0,24	10,20 ± 3,53	13,40 ± 3,34
Ranitidina(60,0 mg/kg-vo)	4,20 ± 0,37	0,00 ± 0,00	4,00 ± 0,41
EBS (0,5 g/kg-vo)	4,00 ± 0,00	17,00 ± 4,20	21,25 ± 4,38
EBS (1,0 g/kg-vo)	4,80 ± 0,20 *	16,00 ± 4,55	14,75 ± 2,78
EBS (2,0 mg/kg-vo)	4,60 ± 0,24 *	13,40 ± 4,87	18,00 ± 5,07

\* p<0.05 em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

n = 6

Tabela 4: Efeito do EBS sobre a secreção ácida gástrica em ratos piloro-ligado

TRATAMENTOS	VOLUME	pH	ACIDEZ TOTAL	PEPSINA (µg pepsina/mL/4h)
Controle (água 5 mL/kg-id)	7,78 ± 1,46	1,76 ± 0,15	0,04 ± 0,01	49,74 ± 3,55
EBS (0,5 g/kg-id)	7,30 ± 0,91	1,79 ± 0,14	0,07 ± 0,01 *	44,14 ± 2,49
EBS (1,0 g/kg-id)	8,16 ± 0,91	1,73 ± 0,11	0,08 ± 0,01*	48,93 ± 1,43
EBS (2,0 g/kg-id)	7,71 ± 0,84	1,84 ± 0,11	0,08 ± 0,01 *	54,12 ± 1,05

\* p<0.05 em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

n = 6

Tabela 5: Efeito do EBS sobre a mucosa gástrica de ratos, após tratamento crônico de 15 dias

TRATAMENTOS	ÍNDICE DE LESÃO	ÍNDICE DE ÚLCERA	ÍNDICE TOTAL
Água (0,5 mL/kg-vo)	2,33 ± 0,33	0,00 ± 0,00	2,33 ± 0,33
EBS (0,0425 mg/kg-vo)	3,40 ± 0,24 **	0,00 ± 0,00	3,40 ± 0,24 **
EBS (0,425 mg/kg-vo)	3,75 ± 0,25 **	0,00 ± 0,00	3,75 ± 0,25 **
EBS (0,85 mg/kg-vo)	4,00 ± 0,00 **	0,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00 **

\*\* p<0.01 em comparação com o grupo controle (ANOVA seguido de “t” de Student).

n = 6

**ANEXO 02 - SAIS, REAGENTES, SOLVENTES E EQUIPAMENTOS**

## 1 Botânica

### 1.1 Solventes e reagentes

Álcool 10%; Álcool 30%; Álcool 50%; Álcool 70%; Álcool 90%; Álcool 95%; Álcool 97%; Álcool absoluto; Ácido acético 100%; Água oxigenada 100%; Formol; Hipoclorito de sódio 20%; Xilol.

Os solventes e reagentes são de procedência Merck ou Reagen.

### 1.2 Equipamentos

Balança - AS - 210 Scientech; Capela; Estufa de secagem de material (vidrarias); Estufa - Biomatic; Micrótomos rotativo- 820 Spencer; Micrótomos de deslizamento; Mesa térmica - Slide Warmer; Compressor aspirador CA Fanem Ltda. Aparelho para desidratação de material botânico - Balzers CPC 010 (M.E.V.); Aparelho para metalizar material vegetal com ouro - Balzers Sputtering SCD 030 (M.E.V.); Microscópio eletrônico de varredura - SEM 505 Philips; Fotomicroscópio de luz - Zeiss.

## 2 Fitoquímica

### 2.1 Solventes e reagentes

Acetato de chumbo 10%; Acetato de sódio; Acetato de etila; Acetona; Ácido acético concentrado; Ácido acético 10%; Ácido clorídrico concentrado; Ácido clorídrico 1%; Ácido clorídrico N; Ácido sulfúrico concentrado; Ácido sulfúrico 10%; Ácido sulfúrico N; Álcool etílico; Anidrido acético; Cloreto férrico 1%; Cloreto de sódio 0.9%; Clorofórmio; Éter de petróleo; Éter etílico; Formaldeído; Gelatina; Hidróxido de amônio; Hidróxido de sódio; Hidróxido de sódio 5%; Magnésio metálico; Metanol; n-Butanol; n-Hexano; Ninhidrina; Papel indicador de pH Universal; Sulfato de ferro amoniacal 1%.

Os solventes e reagentes são de procedência Merck ou Reagen.

## 2.2 Equipamentos

Balança - Mettler; Balança analítica de precisão - Sartorius E. Mettler; Banho-maria - Êtica; Câmara de luz ultravioleta de 254 e 360nm; Deionizador de água - Permution; Estufa - Soc. Fabbe Ltda & Fanem Ltda. Estufa de secagem com circulação de ar - Fanem Ltda.

## 3 Farmacologia

### 3.1 Drogas e reagentes

Ácido tricloroacético p.a. (Merck, Alemanha); Álcool etílico p.a. (Reagen, Brasil); Carbonato de sódio - Sódio carbonato anidro p.a. (Synth, Brasil); Cloridato de ranitidina (GlaxoWellcome S.A., Brasil); Éter etílico p.a. (Biotec, Brasil); Folin cicalteau (Imbralab, Brasil); Indometacina- Indomethacin (Sigma, EUA); Sacarose p.a. - Sucrose (Vetec, Brasil).

### 3.2 Equipamentos

Balança analítica - Ohaus; balança eletrônica para animais - AND FX-6000; Banho-maria - Fabre, modelo 169; Centrífuga - Christ, Germany; Espectrofotômetro - Farmacia Biotech, Ultrospec 2000; Estereoscópio - Metrimpex & Labimex; Homogeneizador - Marconi, modelo MA 102; pHmetro (microcomputer pHvision) - Cole Parmer, modelo 05669-20; Pipeta automática - Sci Tech 5-50 $\mu$ l e 50-200 $\mu$ l.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALL-YAHAYA, M. A.; RAFATULLAH, S.; MOSSA, J. S.; AGEEL, A. M.; AL-SAID, M.S.; TARIQ, M. Gastric antisecretory, antiulcer and cytoprotective properties of ethanolic extract of *Alpinia galanga* in rats. **Phytoterapy**, v. 4, n. 3, p. 112-114, 1990.
- 2 ANSON, M. L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. **J. Gen. Physiol.**, Slovakia, n. 22, p. 78-89, 1938.
- 3 BAGAVATHI, R.; SORG, B.; HEKER, E. Tiglliane-type diterpene esters from *Synadenium grantii*. **Planta Med.**, Stuttgart, p. 506-510, 1988.
- 4 BENEDI, C.; ORELL, J. J. Contribución al estudio fitodermatológico de *Chamaesyce* S. F. Gray (Euphorbiaceae). **Collect. Bot.**, Barcelona, n. 22, p. 39-48, 1993.
- 5 BERLYN, G. P.; MIRSKE, J. P. **Botanical microtechnique and cytochemistry**. Iowa: Iowa University Press, 1976. 326p.
- 6 BERNE, R.; LEWI. **Principles of physiology**. 1996. 437-470p.
- 7 BIESBOR, D. ; MAHLBERG, P. Laticifer starch grain morphology and laticifer evolution in *Euphorbia* (Euphorbiaceae). **Nord. J. Bot.**, Copenhagen, p. 447-457, 1981.
- 8 BOMBARDELLI, E.; GABETTA B.; MUTICH, G. Plants of Mozambique. VI. Flavonoids of *Synadenium carinatum*. **Fitoterapia**, Milan, v.45, n. 3, p. 6-8, 1974.
- 9 BRODIE, D. A.; MARSHALL, R. W.; MORENO, O. M. Effect of restraint on gastric acidity in rat. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, 202, p. 812-814, 1962.
- 10 CARLINI, E. L. A. Estudo de ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras (*Maytenus ilicifolia* "Espinheira Santa" e outras). Brasília, **CEME/AFIP**, n. 89, p. 1988.
- 11 CHEW, C. S. Inhibitory action of somatostatin on isolated gastric glands and parietal cells. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, n. 8, p. 221-2229, 1983.
- 12 CRONQUIST, A. **An integral system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.
- 13 DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in rat. **Sacnd. J. gastroent.**, Tokyo, n. 4, p. 265-267, 1969.
- 14 ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. 12 ed. Edgard Blücher, 1993. 293 p.
- 15 FAHN, A. **Plant anatomy**. 4. ed. Oxford: Pergamon, 1990. 588 p.

- 16 FARMACOPÉIA dos Estados Unidos do Brasil. Parte II. São Paulo: v. 4, 1988.
- 17 FELDER, N.; O'BRIEN, T. P. Plant microtechnique some principles and new methods. **Am. J. Bot.**, Columbus, v. 55, n. 1, p. 123-142, 1968.
- 18 FOSTER, A. S. **Practical plant anatomy**. New York: Van Nostrand, 1949.
- 19 FRANKLIN, G. L. A rapid method of softening wood for microtome sectioning. **Trop Woods.**, New Haven, v. 88, n. 35, 1946.
- 20 GLAVIN, G. B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB J.**, Bethesda, n. 6, p. 825-831, 1992.
- 21 GOLDMAN, H.; ROSOFF, C. B. Pathogenesis of acute gastric ulcers. **Am. J. Pathol.**, Baltimore, v. 53, n. 227, 1968.
- 22 GOODMAN e GILMAN'S, A. The pharmacological basis therapeutics. **Edição internacional**, p. 899-917, 1996.
- 23 GOTTLIEB, O. e KAPLAN, M. A. **Ciência Hoje**, v. 15, n. 89, p. 51-54, abr., 1993.
- 24 HADDAD, A. Obtenção e coloração de cortes semi-finos. In: HADDAD, *et al.* **Manual sobre técnicas básicas em microscopia eletrônica**. Rio de Janeiro: Sociedade brasileira de microscopia eletrônica, 1989.
- 25 HERMANSSON, K.; KENNE, L.; RUKUNGA, M. G.; SAMUELSSON, G. Isolation and characterization of 2-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-L-malic acid from *Synadenium pereskifolium*. **Phytochemistry (Oxf)**, Oxon, v.29, n. 2, p. 513-515, 1990.
- 26 HICKEY, L. J. Clasificación de la arquitectura de las hojas de dicotiledoneas. **Bol. Soc. Argent. Bot.**, Buenos Aires, v. 16, n. 1 e 2 p. 1-26, nov., 1974.
- 27 HIRSCHOWITZ, B. I. *et al.* Effects of pirenzepine and atropine on vagal and cholinergic gastric secretion and gastric release and on heart rate in the dog. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** n. 225, p. 263-268, 1983.
- 28 HIRUMA-LIMA, C. A.; GRACIOSO, J. S.; SOUZA, B. A. R. M.; NUNES, D. S. Atividade antiulcerogênica do óleo essencial das cascas de *Croton cajucara* Benth. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL (25: 1998: Águas de Lindóia). **Anais...** São Paulo, 1998. p. 96.
- 29 IAWA COMMITTEE Committee of the International Association of Wood Anatomists. IAWA List of microscopic features for hardwood identification. **IAWA. Bull.**, Utrecht, v. 10, n. 3, p. 219-332, 1989.
- 30 JENNEWEIN, H. M. ; HAMMER, R. Animal models of ulcer disease. **J. Advances in Ulcers Disease**. p. 35-47, 1980.

- 31 JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: Mc Graw Hill Book, 1940.
- 32 KAJIMURA, M.; REUBEN, M. A.; SACHS, G. The muscarinic receptor gene expressed in the rabbit parietal cells is the M<sub>3</sub> subtype. **Gastroenterology**, Philadelphia, n. 103, p. 870-875, 1992.
- 33 KINGHOR, D. A. Major skin-irritant principle from *Synadenium grantii*. **J. Pharm. Sci.**, Washington, v. 69, n. 12, p. 1446-1447, 1980.
- 34 KITAGAWA, H. *et al.* Effect of water immersion stress on gastric secretion and mucosal blood flow in rats. **Gastroenterology**, Philadelphia, n. 77, p. 298, 1979.
- 35 LAWRENCE, G. H. M. **Taxonomia das plantas vasculares**. v.2, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1951.
- 36 MAHLBERG, P. G; DAVIS, D. G.; GALITZ, D. S.; MANNERS, G. D. Laticifers and the classification of *Euphorbia*: the chemotaxonomy of *Euphorbia esula* L. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, n. 94, p. 165-180, 1987.
- 37 MALFERTHEINER, P.; DISCHUNEIT, H. *Helicobater pilori*, gastritis e ulcer peptic. **Springer Verlage**, Berlin, p. 478, 1990.
- 38 MALONE, R.A. Pharmacological approaches to natural products screening ana evaluation in new natural products and plants with pharmacological. **Biological or Therapeutical Activity**, Berlin, p. 23-53, 1977.
- 39 MARSCHALL, B. Unidentified curved bacili on gastric epithelium in active chornic gastritis. **Lancet i.**, New York, p. 1273-1275, 1983.
- 40 MARTINS, E. R. *et al.* **Plantas medicinais**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1995.
- 41 MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. EUFC, Fortaleza, 1988. 126p.
- 42 MAUSETH, J. D. **Plant anatomy**. California : The Benjamin/Cumming Publishing Company, 1988. 560 p.
- 43 MENNEGA, A. M. Wood antomy of the Euphorbiaceae, in particular of the subfamily Plyllanthoideae. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, v. 94, n. 1 e 2, p. 111-126, 1987.
- 44 METCALFE, C. R.; CHALCK, L. **Anatomy of the dicotiledons**. v. 2, Oxford, 1965.
- 45 MOLERO, J; ROVIRA, A. M. *Euphorbia* L. subsect. *Esula* (Boiss. In DC.) Pax in the Iberican Peninsula. Leaf surface, chromosome numbers and taxonomic treatament. **Collect. Bot.**, Barcelona, n. 21, p. 121-181,1992.
- 46 MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Trib. Farm.**, Curitiba, v. 47, n.1, p. 1-19, 1979.

- 47 MURAKAME, M.; LARM, S. K.; INADA, M.; MIYAKE, M. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint stress in rats. *Gastroenterology*, Philadelphia, n. 88, p. 660-665, 1985.
- 48 NOWACKI, L. C. **Padronização das metodologias experimentais para avaliação de plantas medicinais com atividade sobre o trato gastrointestinal.** Curitiba, 1997. Monografia (Especialização em Farmacologia) - Departamento de Farmacologia, Universidade Federal do Paraná. 72 p.
- 49 PACHALY, J. R. *et al.* Estresse por captura e contenção de animais selvagens. *A hora veterinária*. n. 74, p. 46-52, 1993.
- 50 PAX, F.; HOFFMANN, K. **Euphorbiaceae.** In A. Engler (Ed.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. 2 ed., 19C: 11-233, 1931.
- 51 PREMARATNA, A.; SHADAKSHARASWAMY, M.; NANJAPPA, S. Isolation, purification e proprieties of a lectin from the latex of *Synadenium grantii* Hook f. **Indian Journal of Biochemistry & Biophycis**, New Dehli, v. 18, n. 2, p. 32-35, 1981.
- 52 PRISTA, N. *et al.* **Técnica farmacêutica e farmácia galélica**, 4ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, 1991. 251 p.
- 53 PUJTLA, S. I. El vegetal através del microscopio. **Científico - Médica**. Barcelona. 455 p. 1956.
- 54 RABON, E. C.; REUBEN, M. A. The mecanism and struncture of the gastric  $H^+/K^+$ ATPase. **Annu. Rev. Physiol.**, Palo Alto, n. 53, 321-344, 1990.
- 55 RANG, H. P.; DALE, M.M. **Farmacologia**. 2 ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 1993.
- 56 RECORD, S.J.; HESS, R. W. **Timbers of the new world**. Arno Press: New York, 1972. p.152-164.
- 57 RIZK, M. A. the chemical constituents and economic plants of the Euphorbiaceae. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, v. 94, n. 1 e 2, p. 293-326, 1987.
- 58 ROBERT, A.; NEZAMIS, J.E.; LANCASTER, C.; HAUCHAR, A.J. Citoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology*, Philadelphia, n. 77, p. 433-443, 1979.
- 59 RUDALL, P.J. Laticifers in Euphorbiaceae - a conspectus. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, v. 94, n. 1 e 2, p. 143-163, 1987.
- 60 RUSSEL B. A. Poisonous Plants of North Carolina .1997. URL: <http://russe14.hort.ncsu.edu/poison/Synadgr.htm>. Palavra-chave: *Synadenium grantii*. Consultado em : 10/08/97.

- 61 LITCHFIELD, J.; WILKOXON, F. Simplified methods of evaluating dose - effect experiments"; 1948. SAITO & Co Software & Shareware. 1 disquete 3,5.
- 62 SCHUBERT, M. L.; SHAMBUREK, R. D. Control of acid secretion. **Gastroenterology Clinics of North America (Peptic ulcer disease)**, Philadelphia, v. 19, n. 1, 1990.
- 63 SCHULTES, R. E. Members of Euphorbiaceae in primitive and advanced societies. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, v. 94, n. 1 e 2, p. 79-95, 1987.
- 64 SENAY, S.E.; LEVINE, R.J. Synergism between cold and restraint for rapid production of stress ulcers in rats. **Prod. Soc. Exp. Biol. Med.**, n. 124, p. 1221-1223, 1967.
- 65 SHAY, H.; KOMAROV, S. A.; FELS, S. E. MERAZE, D.; GRUENSTEIN, M.; SIPLLET, H. A simple method for the iniform production of gastric ulceration in rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, n. 5, p. 43-61, 1945.
- 66 SILVEIRA, M. Preparo de amostras biológicas para microscopia eletrônica de varredura. In: SOUZA, W. de **Manual sobre técnicas básicas em Microscopia Eletrônica: técnicas básicas**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Microscopia Eletrônica, 1989. v. 1.
- 67 SOLEREDER, H. **Systematic antomy of the dicotiledons: a handddbook for laboratories of pure and applied botany**. Oxford: Claredon, v. 2, 1908. p. 702-706.
- 68 SOOL, A. H.; TOOMEY, M.; CULP, D.; SHANAHAN, F.; BEAVEN, M. A. Modulation of histamine release from canine fundic mucosal masy cells. **Am. J. Physiol. (Gastrointest. Liver Physiol. 17)**, Bethesda, v. 40, n. 48, p. 257, 1988.
- 69 SZABO, S. *et al.* Alterations in blood vessels during gastric injury and protection. **Scand. J. Gastroenterol.**, Oslo, n. 21 (suppl.125), p. 6-92, 1986.
- 70 SZABO, S. Mechanism of gastric mucosal injury and protection. **J. Clin. Gastroenterol.**, p. 13-21, 1991.
- 71 THISELTON-DYER, T. W. *et al.* Flora of tropical Africa. England: L. Reeve & Co., 1913. v. 6, sect. 1.
- 72 TREASE, G. E.; EVANS, W. C. **Farmacognosia**. 13 ed. México : Interamericana, 1989. 901 p.
- 73 UNNIKRISHNAN, M. K.; DESAI, V. B.; GURUSWAMY, M. N. Cardiovascular action of the ethanolic extract of *Synadenium grantii*. **Fitoterapia**, Milan, v. 59, n. 4, p. 343-347, 1988.
- 74 UNNIKRISHNAN, M. K.; DESAI, V. B.; GURUSWAMY, M. N. Hypothermic activity of the ethenolic extract of the latex of *Synadenium grantii*. **Fitoterapia**, Milan, v. 57, n. 4, p. 277-279, 1987.

- 75 UZABAKILIHU, B.; LAUGEAU, C.; CASADEVALL, E. Latex constituents of *Euphorbia candelabrum*, *E. grantii*, *E. tirucalli* e *Synadenium grantii*. **Phytochemistry (Oxf)**, Oxon, v. 26, n. 11, p. 3041-3045, 1987.
- 76 VERA, T.; CORADIN, R.; MUÑIZ, G. I. B. **Normas e procedimentos em estudos de anatomia da madeira**. IBAMA. DIRPED. LPF. Série técnica, 15. Brasília, 1992. 17p.
- 77 WATSON, L.; DALLWITZ, M. J. The families of flowering plants: descriptions, identification, and information retrieval. Version: 16th March 1997. URL <http://www.keil.ukans.edu/delta/>. Dallwitz (1980), Dallwitz, Paine and Zurcher (1993), and Watson and Dallwitz (1991).
- 78 WEBERLING, F.; SCHANTES, H. O. **Taxonomia vegetal**. E.P.U. São Paulo, 1986.
- 79 WEBSTER, G.L. Conspectus of a new classification of the Euphorbiaceae. **Taxon**. Berlin, v. 24, n. 5 e 6, p. 593-601, 1975.
- 80 WEBSTER, G.L. The saga of the spurges: a review of classification and relationships in the Euphorbiales. **Bot. J. Linn. Soc.** London, v. 94, n. 1 e 2, p. 3-46, 1987.