

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**CARLOS EDUARDO PULZ ARAUJO
FARMACÊUTICO**

**ANÁLISE PRELIMINAR DO EFEITO DE
ALGUMAS ESPÉCIES DO GÊNERO *SOLANUM*
EM LESÕES HEPÁTICAS INDUZIDAS *IN VIVO*
PELO CCL₄ EM RATOS**

Tese apresentada a Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Doutor em Ciências - Área de
Farmacologia

PIRACICABA - S.P.

- 1998 -

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

**CARLOS EDUARDO PULZ ARAUJO
FARMACÊUTICO**

**ANÁLISE PRELIMINAR DO EFEITO DE
ALGUMAS ESPÉCIES DO GÊNERO *SOLANUM*
EM LESÕES HEPÁTICAS INDUZIDAS *IN VIVO*
PELO CCL₄ EM RATOS**

*Este trabalho foi corrigido
devido a uma falta de
conformidade com o
Piracicaba, 23 de junho de 1998.
Thales R. M. Filho*

Tese apresentada a Faculdade de
Odontologia de Piracicaba da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção do
título de Doutor em Ciências - Área de
Farmacologia

ORIENTADOR:

Prof. Dr. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO - FOP/UNICAMP

PIRACICABA - S.P.

- 1998 -



Piracicaba, 08 de julho de 1998

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Doutorado**, em sessão pública realizada em **08 de julho de 1998**, considerou o candidato **CARLOS EDUARDO PULZ ARAUJO** aprovado.

1. PROF. DR. THALES ROCHA DE MATTOS FILHO

Thales M. Mattos

2. PROF. DR. JOSÉ RANALI

José Ranali

3. PROF. DR. SÉRGIO ROBERTO PERES LINE

Sérgio Roberto Peres Line

4. PROF. DR. VITOLDO ANTONIO KOZLOWSKI JUNIOR

~~Vitoldo Antonio Kozłowski Junior~~

5. PROF. DR. FERNANDO DE OLIVEIRA

~~Fernando de Oliveira~~

A DEUS...

Aos meus pais, **ADESSES** (*in memoriam*) e **MOEMA**,

a quem devo minha formação, educação e muito mais.

Ao **MATHEUS** e **ISABELLA**,

extensões de minha existência.

A meus **FAMILIARES**,

pelo carinho e respeito.

A LUCIANE,

mãe de meus filhos, meu reconhecimento.

Ao Prof. Dr. **THALES ROCHA DE MATTOS FILHO**,

pelos ensinamentos, amizade e
confiança na realização deste
trabalho.

**Àqueles que, de paragens superiores,
continuam nos auxiliando.**

ARAUJO, C.E.P.

AGRADECIMENTOS

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA (FOP-UNICAMP), na pessoa de seu Digníssimo Diretor, Prof. Dr. JOSÉ RANALI, pelo apoio Institucional oferecido durante o meu convívio na Pós-Graduação;

Aos DOCENTES DO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA da FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA - UNICAMP, pela inestimável contribuição à minha formação científica;

Ao Prof. Dr. FERNANDO DE OLIVEIRA, pela possibilidade de utilização das dependências do Laboratório - Centro Multidisciplinar de Pesquisa (CMP) - da Universidade São Francisco - USF, na elaboração dos extratos e realização das análises químicas do presente trabalho;

Ao Prof. JOSÉ AIRES PEREIRA, pelo auxílio na realização da parte histopatológica deste Trabalho;

Ao Farmacêutico JOSÉ ROBERTO DA SILVA pelo auxílio na realização da parte de identificação química dos extratos;

Aos COLEGAS do Curso de Pós-Graduação, pelo estímulo durante a realização deste trabalho;

A Sra. MARIA ELISA DOS SANTOS, secretária da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica pela atenção carinhosa dispensada em todos os momentos;

Aos técnicos JOSÉ CARLOS e ADEMIR pela atenção dispensada quando da minha presença no laboratório da FOP - UNICAMP;

As Professoras ESTERA FINKELFARB, MARCIA ANTONIO e DÉBORA FACHIN NOGUEIRA pela amizade e companherismo;

As BIBLIOTECAS da Universidade Estadual de Campinas - FOP / UNICAMP e Universidade São Francisco - USF, pelo levantamento da literatura descrita neste trabalho;

A FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, MÉDICAS e FACULDADE DE ODONTOLOGIA da Universidade São Francisco, através de seus Diretores, Prof. Dr. EDSON RODRIGUES, Prof. SÉRGIO NARDY e Prof. ROSSINE MACIEL, respectivamente, pelo apoio irrestrito à realização e conclusão deste Trabalho;

A UNIVERSIDADE SÃO FRANCISCO de Bragança Paulista - USF, pelo apoio Institucional fornecido ao longo desta jornada;

Ao Prof. CAMPOS (INGLÊS LESSA) pela revisão nas traduções da língua inglesa;

Aos TÉCNICOS do LABORATÓRIO de FISIOLOGIA e FARMACOLOGIA da Universidade São Francisco - USF, pela contínua atenção dispensada em todos os momentos;

Aos amigos das "tertúlias bragantinas", Paulão Arnoldi, Paulão (Juiz), Zé Guilherme, Maria Regina, Mialhe, Prof. Januzzi, Esterinha e Bocault;

A todos aqueles que, embora não citados nominalmente, contribuíram para a concretização deste trabalho.

CONTEÚDO

CONTEÚDO

1. Listas.....	01
1.1. Lista de figuras, tabelas e lâminas.....	01
1.2. Lista de abreviaturas.....	10
2. Resumo.....	13
3. Introdução.....	15
4. Revisão Bibliográfica.....	20
4.1. <i>Solanum paniculatum</i> L.....	20
4.2. <i>Solanum variable</i> M.....	34
4.3. <i>Solanum nigrum</i> L.....	36
4.4. <i>Solanum cernuum</i> V.....	55
4.5. Métodos Aplicados ao Estudo de Plantas Medicinais com Indicação Hepatoprotetora.....	59
4.6. Correlação entre a Pesquisa Biológica <i>in vivo</i> e <i>ex vivo</i> com Ensaios Clínicos em Humanos.....	93
5. Objetivos.....	107
6. Material e Método.....	108
6.1. Animais utilizados.....	108

6.2. Seleção das Espécies Vegetais, Coleta, Identificação, Montagem das Exsiccatas, Levantamento Bibliográfico, Obtenção e Preparo dos Extratos Hidroalcoólicos Evaporados.....	109
6.3. Identificação Química de Alcalóides.....	115
6.4. Identificação Química de Flavonóides.....	117
6.5. Identificação Química de Saponinas.....	120
6.6. Identificação Química de Taninos.....	123
6.7. Técnica da Hepatotoxicidade Induzida pelo Tetracloreto de Carbono.....	125
6.8. Colheita de Sangue para a Determinação das Aminotransferases e Bilirrubina Total e Direta.....	127
6.9. Determinação da Atividade das Aminotransferases no Soro.....	128
6.10. Determinação de Bilirrubina Total e Direta no Soro.....	134
6.11. Cálculo da Atividade Hepatoprotetora.....	139
6.12. Procedimentos Técnicos para a Confecção de Preparados Histológicos a partir de Espécimes Hepáticos.....	139
6.13. Critérios para a Avaliação Histopatológica.....	140
6.14. Análise Estatística.....	141
7. Resultados.....	142
7.1. Resultados - Análises Bioquímicas.....	142
7.2. Resultados - Análises Químicas.....	158
7.3. Resultados - Análises Histopatológicas.....	159
8. Discussão.....	189

8.1. Considerações sobre a Metodologia Empregada.....	189
8.2. Considerações sobre as Aminotransferases e o CCl ₄	192
8.3. Considerações sobre a Bilirrubina Sérica e o CCl ₄	196
8.4. Considerações sobre as Alterações Histopatológicas.....	202
8.5. Considerações sobre a Análise Química.....	208
8.6. Considerações sobre as Análises Bioquímicas e Histopatológicas nos Animais Tratados com <i>Solanum paniculatum</i> L.....	218
8.7. Considerações sobre as Análises Bioquímicas e Histopatológicas nos Animais Tratados com <i>Solanum variable</i> M.....	225
8.8. Considerações sobre as Análises Bioquímicas e Histopatológicas nos Animais Tratados com <i>Solanum nigrum</i> L.....	228
8.9. Considerações sobre as Análises Bioquímicas e Histopatológicas nos Animais Tratados com <i>Solanum cernuum</i> V.....	234
9. Conclusões.....	238
10. Summary.....	239
11. Referências Bibliográficas.....	241
12. Anexos.....	287

1. LISTAS

1.1. LISTA DE FIGURAS, TABELAS E LÂMINAS

1. LISTAS

1.1 Lista das figuras, tabelas e lâminas presentes no texto

	página
Figura 1 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum paniculatum</i> L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.	142
Figura 2 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum paniculatum</i> L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.	143
Figura 3 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum paniculatum</i> L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.	144
Figura 4 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum paniculatum</i> L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.	145
Figura 5 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum variabile</i> M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.	146
Figura 6 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de <i>Solanum variabile</i> M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl ₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.	147

Figura 7 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum variabile* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

148

Figura 8 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum variabile* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

149

Figura 9 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

150

Figura 10 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

151

Figura 11 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

152

Figura 12 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

153

Figura 13 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

154

Figura 14 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h

após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

155

Figura 15 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

156

Figura 16 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

157

Tabela 1 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

142

Tabela 2 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

143

Tabela 3 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

144

Tabela 4 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

145

Tabela 5 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum variabile* M. L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

146

Tabela 6 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum variabile* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

147

Tabela 7 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum variabile* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

148

Tabela 8 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum variabile* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

149

Tabela 9 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

150

Tabela 10 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

151

Tabela 11 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

152

Tabela 12 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

153

Tabela 13 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

154

Tabela 14 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

155

Tabela 15 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

156

Tabela 16 - Efeito do pós-tratamento intragástrico com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl₄ nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

157

Tabela 17 - Resultados da análise química qualitativa dos extratos hidroalcoólicos evaporados obtidos a partir das partes aéreas de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V.

158

Lâmina 1 - Grupo controle (veículo NaCl 0,9%). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

159

Lâmina 2 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum paniculatum* L. (0,5 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

160

Lâmina 3 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum paniculatum* L. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

161

Lâmina 4 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum variabile* M. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

162

Lâmina 5 - Grupo controle com o EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

163

Lâmina 6 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central, espaços sinusóides e cordões de células hepáticas dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.

164

Lâmina 7 - Grupo tratado somente com CCl_4 ($1,5 \text{ mL.kg}^{-1}$, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.

165

Lâmina 8 - Grupo tratado somente com CCl_4 ($1,5 \text{ mL.kg}^{-1}$, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 400x.

166

Lâmina 9 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.

167

Lâmina 10 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 400x.

168

Lâmina 11 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.

169

Lâmina 12 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático

-
- de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 400x. **170**
-
- Lâmina 13** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M.(1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x. **171**
-
- Lâmina 14** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 400x. **172**
-
- Lâmina 15** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x. **173**
-
- Lâmina 16** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 400x. **174**
-
- Lâmina 17** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática. H & E 100x. **175**
-
- Lâmina 18** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 400x. **176**
-
- Lâmina 19** - Grupo tratado somente com CCl_4 (1,5 mL.kg⁻¹, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x. **177**
-
- Lâmina 20** - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. (0,5 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático

de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x.

178

Lâmina 21 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x.

179

Lâmina 22 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x.

180

Lâmina 23 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x.

181

Lâmina 24 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos. H & E 100x.

182

Lâmina 25 - Grupo tratado somente com CCl_4 ($1,5 \text{ mL.kg}^{-1}$, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

183

Lâmina 26 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

184

Lâmina 27 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático

de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

185

Lâmina 28 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variabile* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

186

Lâmina 29 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

187

Lâmina 30 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada tumefação turva dos hepatócitos. H & E 100x.

188

1.2. LISTA DE ABREVIATURAS

1.2. Lista das abreviaturas presentes no texto:

%	porcento
μ	micra
(e)	esteatose
μg.mL ⁻¹	micrograma por mililitro
μL	microlitro
(n)	necrose
(t)	tumefação turva dos hepatócitos
¹⁴ C-AP	¹⁴ C-aminopirina
AFB ₁	Aflotoxina B ₁
ALT	alanina aminotransferase
AST	aspartato aminotransferase
BILDIR	bilirrubina direta
BILTOT	bilirrubina total
C	chá
CCl ₄	tetracloroeto de carbono
(ch)	cordões de células hepáticas
Cmoat	transportador de ânion orgânico multiespecífico
E.P.M.	erro padrão da média
EA	extrato aquoso
EAB	extrato aquoso bruto
EHA	extrato hidroalcoólico
EHE	extrato hidroalcoólico evaporado
et al	e outros
EtOH	etanol
FA	fração obtida por infusão em água de resíduo
FD	fração solúvel em diclorometano
Fdaq	fração solúvel em diclorometano particionada em água

FR	fração solúvel em diclorometano insolúvel em água
g	grama
g.kg ⁻¹	grama por kilograma
h	hora
H ₂ O	água
HBsAg	antígeno superficial ou antígeno Austrália
i.d.	intraduodenal
i.g.	intragástrica
i.p.	intraperitoneal
M	mol
mg.100 mL ⁻¹	miligramas por cem mililitros
mg.kg ⁻¹	miligramas por kilograma
min	minuto
mL	mililitro
mL.kg ⁻¹	mililitro por kilograma
mL.min ⁻¹ .100g ⁻¹	mililitro por minuto por cem gramas
MMPT	transição da permeabilidade da membrana mitocondrial
n	número
NaCl 0,9%	cloreto de sódio 0,9 gramas por cem mililitros
nM.mL ⁻¹	nanomol por mililitro
°C	grau centígrado
PVPI	polivinil-pirrolidone iodine
r.p.m.	rotações por minuto
(s)	espaços sinusóides
SNMC	preparação contendo glicirrizina (40 mg), cisteína (20 mg) e glicina (400 mg) em solução de cloreto de sódio a 0,9%
S.P.F.	specific pathogen free (livre de patógenos específicos)

SIAM	hipóxia pericentral
SP	<i>Solanum paniculatum</i> L.
TNP-LP ₁	fração macromolecular trinitrofenilada
UI	unidade internacional
USF	Universidade São Francisco de Bragança Paulista
v.o.	via oral
v/v	volume por volume
(vc)	veia central
VELL	Herbário Frei Velloso do Laboratório Multidisciplinar de Pesquisa da Universidade São Francisco de Bragança Paulista

2. RESUMO

2. RESUMO

Os pós-tratamentos com os extratos hidroalcoólicos evaporados (EHEs) das espécies *Solanum paniculatum* L. (jurubeba), *Solanum variabile* M. (jurubeba-falsa), *Solanum nigrum* L. (maria-pretinha) e *Solanum cernuum* Vell. (panacéia) selecionadas etnofarmacologicamente, foram investigados em lesões hepáticas previamente induzidas pelo tetracloreto de carbono (CCl₄). Os EHEs foram obtidos por percolação empregando-se o processo A Farmacopéia Brasileira 2ª edição, a partir das partes aéreas destas espécies (caules, folhas, flores), coletadas na região de Bragança Paulista (SP). Previamente procedeu-se a análise química qualitativa para alcalóides, flavonóides, saponinas e taninos. Ratos albinos, *Wistar*, machos, foram divididos em 6 grupos para o *S. paniculatum* L. e 4 grupos para o *S. variabile* M., *S. nigrum* L. e *S. cernuum* V., recebendo no tempo 0, respectivamente, **G1a**, **G2a** e **G3a** (óleo de oliva 3,75 mL.kg⁻¹, intragástricamente - *i.g.*), **G4a**, **G5a** e **G6a** (CCl₄ - 1.5 mL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40% v/v; *i.g.*), para *S. paniculatum* L., e no tempo 0, **G1b** e **G2b** (óleo de oliva 3,75 mL.kg⁻¹, *i.g.*), **G3b** e **G4b** (CCl₄ - 1.5 mL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40% v/v; *i.g.*) para as demais espécies. Nos tempos 6, 12 e 18h, os grupos do *S. paniculatum* L. receberam, *i.g.*, **G1a** (veículo do EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G2a** e **G3a** (EHE - 0,5 e 1,0g.kg⁻¹ respectivamente), **G4a** (veículo do EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G5a** e **G6a** (EHE - 0,5 e 1,0 g.kg⁻¹ respectivamente), sendo para as demais espécies, **G1b** (veículo do EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G2b** (EHE - 1,0g.kg⁻¹), **G3b** (veículo do EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G4b** (EHE - 1,0 g.kg⁻¹). Decorridas 24h da lesão pelo CCl₄,

espécimes sanguíneos e hepáticos foram coletados, e como marcadores das lesões hepatocitotóxicas, análises bioquímicas de atividade das aminotransferases (ALT e AST) e de concentrações séricas de bilirrubina total e direta foram realizadas. Para o estudo histopatológico levou-se em consideração a intensidade dos fenômenos esteatose, necrose e tumefação turva dos hepatócitos. Os valores bioquímicos foram submetidos a análise de variância, sendo aplicado o teste de Dunnett aos dados significativos ($p < 0,05$). Os grupos tratados com os EHEs associados ao CCl_4 não se mostram efetivos na reversão da rota de lesão hepática citotóxica induzido por este agente, em nenhuma das doses administradas, mediante os resultados bioquímicos. Os EHEs de *Solanum paniculatum* L. e *Solanum nigrum* L., exacerbaram a lesão hepática pelo CCl_4 de acordo com os valores de bilirrubina total e direta obtidos, assim como o EHE de *Solanum variabile* M., a partir dos resultados de atividade enzimática da ALT. Os resultados da histopatologia não diferiram significativamente entre os grupos tratados com CCl_4 e EHEs em relação ao grupo tratado somente com o CCl_4 , nos parâmetros esteatose, necrose e tumefação turva dos hepatócitos. O EHEs de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V. foram ineficazes na reversão da progressão do dano hepático promovido pelo CCl_4 , sendo por isto, destituídos de atividade hepatoprotetora no presente protocolo experimental, não se justificando seus empregos etnofarmacológicos para o tratamento de hepatopatias.

Palavras-chave: Plantas medicinais, plantas úteis, fígado - doenças, toxicidade - testes, testes funcionais hepáticos.

3. INTRODUÇÃO

3. INTRODUÇÃO

A vida do homem está diretamente ligada a seu meio ambiente, onde busca elementos que lhe proporcionem alimento, saúde, vestimenta e materiais de construção. Os vegetais, em particular, estão associados a estes elementos, que sob diversas formas têm sido fator decisivo nos fenômenos sociais e econômicos determinantes da evolução da humanidade.

A utilização de plantas com propriedades medicinais remonta a muitos séculos; a Bíblia descreve aproximadamente 200 plantas medicinais e respectivas aplicações. Há 3.400 anos atrás alguns papiros já indicavam o tratamento de enfermidades através de plantas. Hipócrates, há 2.500 anos, conhecia o uso da cicuta e do ruibarbo. Teofrasto, em 372 a.c., menciona em suas obras o uso da canela e centeio, entre outras plantas. Dióscoros, ao escrever "De Matéria Médica", no ano 77 a.c., menciona as plantas medicinais conhecidas.

Galeno (131-200 d.c.) indicava o emprego e adulterações nas plantas medicinais ao escrever seus vinte livros sobre Medicina e Farmácia. Através dessas obras e outras posteriores, tornou-se possível a formação da farmácia européia.

As informações iniciais sobre a flora medicinal da América foram transmitidas pelos nativos aos missionários e viajantes europeus, que tornaram estes conhecimentos públicos através de obras editadas a partir de 1535, onde aparecem descrições do guaco, cacau e tabaco. Nos séculos

seguintes as plantas medicinais continuaram sendo utilizadas empiricamente pela população; fato que paulatinamente acabou motivando muitos cientistas, nos séculos XVIII e XIX, a estudarem e isolarem substâncias puras de origem vegetal.

Entre os muitos compostos isolados pode-se destacar a sacarose em 1747; os ácidos láctico, cítrico, tartárico entre outros. Em 1806, foi obtido o primeiro alcalóide, a morfina. Em 1860, foi isolada a cocaína. No século XX, a partir da Segunda Guerra Mundial, o interesse em se buscar compostos químicos como intermediários de síntese de medicamentos se intensificou, como, por exemplo, a síntese de hormônios esteroidais a partir de produtos naturais, os glicoalcalóides.

Calcula-se que ao redor de 80% dos habitantes do planeta tratam principalmente com medicamentos tradicionais suas necessidades primária de saúde, e seguramente uma grande parte dos tratamentos tradicionais compreendem o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos.

A base de dados Napralet, da Universidade de Illinois, documenta os usos etnomédicos de quase 9.200 das 33.000 espécies de monocotiledôneas, dicotiledôneas, gimnospermas, pteridófitas, briófitas e líquens. Na China, 5.000 das 35.000 espécies de plantas existentes são utilizadas como medicamentos na medicina tradicional. A federação Mundial de Fabricantes de Medicamentos de Livre Acesso está levando a cabo, por encargo da Organização Mundial de Saúde (OMS), um estudo sobre a utilização atual de plantas medicinais em alguns países, em sua maioria

industrializado. Os resultados indicam que o número de pessoas que utiliza medicamentos a base de plantas medicinais é alto e crescente principalmente em indivíduos jovens. A população estudada usa medicamentos herbais para o tratamento de problemas como insônia, indigestão, perda do apetite e tensão nervosa. Não obstante, pesquisadores da China, Alemanha, Japão e, em menor medida, a Índia, estão dedicando grande atenção ao estudo químico-farmacológico de plantas medicinais.

No Brasil, a utilização de plantas medicinais têm sido uma prática generalizada na medicina popular, em decorrência do acúmulo secular de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais, por diversos grupos étnicos. Observações realizadas até o presente momento permitem supor que todas as formações culturais fazem uso de plantas medicinais como recurso terapêutico. No nosso País, além da assimilação dos conhecimentos indígenas, as contribuições trazidas pelos escravos e imigrantes representaram papel importante para o surgimento de uma medicina rica e original, na qual a utilização de plantas medicinais ocupa lugar de destaque.

Hoje, o seu uso não se restringe às zonas rurais ou regiões desprovidas de assistência médica e farmacêutica, tudo indicando também a utilização intensa no meio urbano, como forma alternativa ou complementar aos medicamentos da medicina oficial. Outros indicativos de amplo uso de plantas medicinais são o comércio intenso em locais públicos e a venda de formas derivadas simples (planta rasurada ou pó) em mercados municipais, farmácias, drogarias e supermercados.

Nos últimos anos, alguns fatores têm contribuído para o aumento da utilização de tal recurso, mesmo em camadas sociais que até então não empregavam: a crise econômica, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica e farmacêutica, bem como uma tendência generalizada dos consumidores em utilizar, preferencialmente, produtos de origem natural. Esta prática vem sendo estimulada, geralmente de maneira pouco criteriosa, pela propaganda e pelos meios de comunicação, tal como ocorre com outros medicamentos, através da divulgação de propriedades “milagrosas” de determinadas plantas. Frequentemente, estes setores ignoram ou omitem o conhecimento popular acumulado em séculos passados e o conhecimento acadêmico obtido em pesquisas desenvolvidas nas últimas décadas sobre os efeitos desejados ou não, precauções e contra-indicações destas plantas.

A doença hepática tem se constituído em um problema global. Entre os principais fatores etiológicos estão o aumento do consumo de álcool, subnutrição, anemia, infecções virais e bacterianas, além do fácil acesso da população a muitas drogas com potencial hepatotóxico comercializadas livremente em farmácias e drogarias nos países em desenvolvimento.

Muitos compostos sintéticos potentes tem sido utilizados no tratamento das hepatopatias, tais como agentes corticosteróides, antivirais e imunossupressores, sendo porém em algumas situações ineficazes. Paradoxalmente, muitos destes agentes por si só são capazes de causar

lesão hepática, como a icterícia colestática pela azatioprina e elevações das aminotransferases pelo interferon e virazol. Portanto tem se tornado imperioso a busca de substâncias alternativas para o tratamento dos distúrbios hepáticos, com o propósito de complementar a lacuna terapêutica que muitos dos compostos sintéticos disponíveis não conseguem preencher.

A utilização de plantas medicinais na prevenção e tratamento de doenças hepáticas, em sua grande maioria tem sido condicionada a um processo de experimentação empírica, fazendo com que a pesquisa farmacológica de plantas com possíveis efeitos benéficos sobre a morfofuncionalidade hepática se revista de grande importância. Neste contexto muitas são as que tem sido indicadas e utilizadas em nosso folclore com finalidade hepatoprotetora. Entre as espécies de plantas medicinais brasileiras que gozam de grande reputação, as jurubebas (*Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V.) ocupam lugar de destaque, sendo amplamente empregadas para o tratamento de "males do fígado", sem porém, qualquer subsídio científico comprovado de sua eficácia.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. *Solanum paniculatum* L.

As Solanáceas são plantas que ocorrem em todo o planeta, sendo particularmente abundantes nas Américas. Esta família é constituída por um grande número de espécies com atividades medicinais e tóxicas, além de outras de interesse bromatológico, não havendo talvez uma só planta desta família que não goze de alguma propriedade aproveitável (KAWATA, 1978).

Esta planta distribui-se geograficamente em quase toda a Nação, próximo de habitações, campos, locais semidevastados e em terrenos recém-queimados, onde forma agrupamentos às vezes densos (SACCO *et al.*, 1985).

Muitas espécies do gênero *Solanum* são conhecidas vulgarmente por jurubeba, HOEHNE (1920), porém, cita a jurubeba como sendo o *Solanum paniculatum* L. Regionalmente o *Solanum paniculatum* L. recebe diversas denominações vulgares, tais como, gerobeba (MG); joá-manso (SP); jubeba (CE, SC); jupeba, juribeba (SC); juripeba (CE); jurubeba (BA, CE, MG, MT, PA, RJ); jurubeba-verdadeira (SC); jurubebinha (SC), jurupeba (SC), sendo sua sinonímia no estrangeiro, Friega Platos (CUBA) (COELHO & LIMA, 1956; LINS, 1956; MONTEIRO *et al.*, 1956; CARVALHO, 1958; LIMA, 1964; BLANCO & FRATTINI, 1978; CORRÊA, 1978; FERREIRA & LACA-BUENDIA, 1978).

Tudo parece indicar que a jurubeba já era utilizada pelos nossos silvícolas quando da descoberta do Brasil pelos portugueses. No entanto, a primeira notícia escrita desta planta é de autoria de médicos naturalistas holandeses Pies e Marggravi, que aqui estiveram no Brasil durante o domínio holandês (COSTA, 1940).

SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982, dá notícia de que o emprego do fruto da jurubeba já era conhecido desde longa data em todo o norte do Brasil, e que no Ceará, o cirurgião João Francisco Tavares de Melo, já a empregava desde 1816, nas afecções do fígado, nos casos de anemia e ingurgitamento do baço e na opilação sob a forma de cosimento, e, externamente, sob a forma de emplastro para uso local.

Foi PINTO (1873), que muito concorreu para a maior divulgação do conhecimento das extraordinárias propriedades terapêuticas da jurubeba. Efetivamente este pesquisador foi um grande entusiasta do uso desta espécie a tal ponto que considerava a jurubeba "superior a todos os tônicos até então conhecidos", aconselhando seu emprego internamente contra a anemia, clorose, febre intermitente, hidropisia, obstrução do fígado e do baço e até mesmo como emenagogo e no combate do catarro da bexiga. Externamente indicava a utilização de suas folhas frescas em lavagens e compressas para apressar a cicatrização de ferimentos e úlceras (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

O professor Arnaldo Catani, eminente clínico italiano, preconizou, em 1877, o emprego da jurubeba nas febres intermitentes, nos

tumores e afecções crônicas do fígado, nas moléstias da bexiga e do útero, na anemia, na clorose e especialmente na hidropisia (COSTA, 1940).

A raiz é a parte medicinalmente indicada na Farmacopéia I^o edição, porém, na sua II^o edição, verifica-se o seguinte: "a droga consiste da raiz ou do caule ou da mistura de ambos, sempre cortados em pedaços de comprimento muito variável (KAWATA, 1978), porém a comercialização da droga é freqüentemente constituída por caule mais ou menos desenvolvido, folhas e, muitas vezes, também, flores e frutos, podendo-se concluir que a droga utilizada terapeuticamente pela população é constituída por toda a planta (HOEHNE, 1920; SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

Farmacologicamente, encontram-se identificados a partir da espécie *Solanum paniculatum* L., um alcalóide, a jurubebina (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982), duas resinas: jupebenina e jupebina (COSTA, 1940). Das raízes foram isoladas duas saponinas esteroidais nitrogenadas identificadas como paniculina e jurubina que quando hidrolisadas produzem as pseudo-agliconas paniculidina e jurubidina e uma D-glicose (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996). Outras saponinas também estão presentes na raiz: as agliconas denominadas isojuripidina, isojurubidina e isopaniculidina (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996). Os alcalóides solamargina, solanina, solanidina e solasodina também foram detectados nas raízes e foi constatado que a concentração de alcalóides é maior nas raízes (0,25-0,96%), do que no caule (0,28%), nas folhas (0,20%) ou nos frutos (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996).

O estudo químico das folhas revelou a presença dos glicosídeos paniculoninas A e B e do material hidrolisado foram obtidas as agliconas não nitrogenadas: neoclorogenina e paniculogenina (SANTOS, 1996). Nas flores e folhas foram detectados três alcalóides, sendo um deles identificado como solanina, um alcalóide esteroidal encontrado em várias espécies do gênero *Solanum* (SANTOS, 1996). Ainda das folhas e caule foram encontrados os alcalóides solanina e solamargina (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996). Outras substâncias químicas também já foram detectadas em seus frutos e raízes como mucilagens (HOENE, 1939), flavonóides e taninos (AGRA & BARBOSA, 1990).

Manuel Freire Alemão, é considerado o precursor dos estudos farmacológicos das plantas medicinais do Brasil influenciando com suas observações em numerosos trabalhos escritos após sua morte em 14 de maio de 1863. Este colocou as jurubebas entre os "aperientes", diuréticos, "desobstruentes" e "tônicos ou reborantes", na ordem dos amargos, dando as seguintes indicações terapêuticas: raízes e frutos amargos, tônico, desobstruente, usados na opilação, na hidropisia. Em vários trabalhos, este pesquisador discutia a possibilidade das propriedades terapêuticas serem devidas à presença de saponina e solanina (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

PIZARRO (1872) na Tese apresentada sobre "Solanáceas Brasileiras" atribui às jurubebas os usos médicos nas obstruções do fígado e no catarro vesical (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

CARRASCOSA (1886) na Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Bahia em 1886 sobre a jurubeba, discute as várias indicações terapêuticas das diversas preparações da planta, atribuindo grande parte de suas atividades estimulantes no aparelho digestivo e glândulas anexas ao princípio amargo e a jurubebina. Foram discutidas as propriedades expectorantes e diuréticas, sendo estas atribuídas a uma substância balsâmica, cuja eliminação na urina podia ser constatada pelo odor característico. A melhora da dispepsia induzida pela substância amarga seria responsável pela ação tônica e pelo combate à constipação intestinal. Segundo ainda este estudo, o estímulo a secreção ácida do estômago melhoraria o aproveitamento de ferro alimentar trazendo benefícios nas anemias ferroprivas, concorrendo para a liberação do fator intrínseco responsável pela absorção da vitamina B₁₂. Este autor, ainda realizou observações acerca da aplicação da jurubeba no ingurgitamento hepático e esplênico demonstrando ser benéfica a administração do fitoterápico. As demais indicações da planta não ofereceram resultados conclusivos (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

OLIVEIRA (1947) realizou ensaios clínicos através da entubação duodenal em grupos de indivíduos normais, com insuficiência hepática e em portadores de colecistites. Os exames das biles coletadas comprovaram as propriedades colagogas e coleréticas de preparações de jurubebas ensaiadas (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

BARROS et al (1967), realizaram ensaios farmacológicos com extrato aquoso e etanólico de *S. paniculatum* L. observando a depressão respiratória e da pressão arterial em gato com o extrato etanólico, e queda da pressão arterial e estímulo respiratório do mesmo animal com o extrato aquoso. Observou ainda que, tanto os extratos aquoso como o etanólico, eram tóxicos para o camundongo pela injeção intraperitoneal e somente o etanólico era ictio tóxico. A maior ictiotoxicidade do extrato etanólico levou a admitir não ser somente a saponina responsável por este tipo de efeito (SIQUEIRA & JACCOUD *et al.*, 1982).

PEREIRA & KIRK, nos testes de hidratação em ratos observaram uma discreta atividade diurética do extrato aquoso das folhas de jurubeba (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

COSTA (1940) em seu trabalho apresentou uma síntese das indicações terapêuticas da jurubeba e de suas preparações galênicas. A presença de derivados do tipo ácido clorogênico, como a neoclorogenina (WEILER *et al.*, 1980) poderia explicar a atividade colagoga e colerética da jurubeba, como a observada pelo estudo clínico de OLIVEIRA (1947).

LIMA *et al.* (1994), estudando a atividade antifúngica "*in vitro*" de vários extratos de plantas, dentre eles o de *Solanum paniculatum* L., sobre 16 cepas de dermatófitos isolados de lesões de pacientes com dermatofitoses, utilizando o método de difusão em ágar Sabouraud, incubados à temperatura ambiente (28-30 °C) por 10-14 dias, observaram que este foi capaz de inibir em média 76% das cepas testadas, confirmando

as atividades farmacológicas existentes nos metabólitos vegetais, sobre os fungos.

YSHIMINE *et al.* (1994), analisaram os efeitos do tratamento crônico de ratas com o extrato aquoso (EA) sobre a fertilidade e capacidade reprodutora. Para tanto ratas virgens com 120 dias de idade foram tratadas com dose 20 vezes maior que aquela empregada popularmente ($250 \text{ mg.kg}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$, v.o.). Durante o tratamento foram acompanhados o ciclo estral das ratas por exame diário do esfregaço vaginal e dos pesos corporais 2 vezes por semana. Após 15 dias de tratamento as ratas foram acasaladas e o primeiro dia de prenhez determinado pela presença de espermatozóides no esfregaço vaginal. O tratamento dos animais com EA foi continuado até a interrupção da prenhez no 17º dia de gestação ou até nascimento dos conceptos. O tratamento com EA de *S. paniculatum* L. no período de gestação e durante a amamentação não alterou os pesos corporais das ratas em relação ao controle.

A duração do ciclo estral, os índices de fertilidade (número de ratas prenhes/número de ratas acasaladas) e de gestação (% de prenhez resultante em nascimento de filhotes vivos) determinados no 17º dia de gestação não diferiram dos encontrados nos controles.

O índice de viabilidade (% de sobrevivência após 4 dias de nascimento) foi de 100% em ambos os grupos. O número de implantes, fetos, peso dos fetos não diferiram entre os grupos, também não havendo diferenças no número, peso, comprimento dos filhotes nascidos a

termo. Os resultados desse trabalho indicaram que o tratamento crônico com o EA da planta não apresentava efeitos tóxicos na fertilidade, nidação ou na capacidade reprodutora.

Dando continuidade aos estudos toxicológicos com o extrato aquoso (EA) de *S. paniculatum* L., HARRY *et al.* (1994), conduziram uma pesquisa onde os efeitos do tratamento crônico com o EA na fertilidade e na capacidade reprodutora de ratos foram analisados. Ratos de pais tratados cronicamente com o EA (geração F₁), machos e fêmeas, receberam após o desmame o EA (250 mg.kg⁻¹.dia⁻¹, v.o.). Ao final dos tratamentos, esses animais foram necropsiados e determinados os pesos das gônadas, adrenais, hipófise e da genitália acessória masculina. Os animais foram tratados com o EA até o acasalamento (60 dias), durante a gestação (21 dias) e período de lactação (21 dias), e não se constatou qualquer alteração no ganho ponderal dos animais tratados em relação aos seus controles. A duração do ciclo estral nas ratas e o número de implantes e de fetos dos animais tratados não diferiu do controle. Os índices de fertilidade, de gestação, de viabilidade e de lactação, determinados no 17º dia, não diferiram entre os grupos tratados e controle. Os pesos dos fetos, o número de filhotes por ninhada, o comprimento dos filhotes resultantes do cruzamento, nascido a termo não diferiram entre os grupos tratados e controle. Os resultados obtidos dos peso corporal, peso dos testículos, próstata, vesícula seminal, adrenais e hipófise não diferiram entre os animais tratados e controle.

Resultados semelhantes foram obtidos em animais da geração F₂. Os dados encontrados por estes autores indicaram que o tratamento crônico de duas gerações com o EA de *S. paniculatum* L. não interferia na fertilidade, nidação e na capacidade reprodutora desses animais. Os dados relativos a análise dos pesos das gônadas, genitália acessória, adrenais e da hipófise em F₁ e F₂ indicaram que o EA não produzia alterações nos níveis harmoniais dos animais tratados.

A atividade de *S. paniculatum* L. na secreção ácida gástrica de camundongos foi estudada por MESIA *et al.* (1994), onde foram determinados os efeitos dos extratos aquosos (EA) preparados a partir do chá (5%) do caule, folhas, flores, frutos e raízes desta planta. A administração intraduodenal (i.d.) dos extratos (0,5; 1,0 e 2,0 g.kg⁻¹) a partir das raízes e do caule em animais com ligadura pilórica inibiram a acidez total em torno de 80% em todas as doses testadas. A administração dos EAs das folhas e das flores não alteraram a acidez total. Neste interessante estudo, o EA dos frutos aumentou a acidez total. Os resultados mostraram que, dependendo da parte utilizada, efeitos opostos na secreção ácida do estômago era observada. Fato digno de nota, é a utilização dos frutos pela população como estimulante do apetite..

RIADO *et al.* (1995), avaliaram o possível efeito hepatoprotetor do extrato hidroalcoólico evaporado (EHE) das folhas, caules e flores de *S. paniculatum* L. (SP), sobre lesões induzidas artificialmente pelo tetracloreto de carbono (CCl₄) em camundongos. Como marcador da funcionalidade

hepática foi utilizado o tempo de sono induzido pelo pentobarbital sódico. Para tanto os animais foram divididos em 4 grupos recebendo por via intragátrica (i.g.) o veículo do EHE, veículo do CCl₄, EHE de SP (0,5 g.kg⁻¹) e EHE de SP (1,0 g.kg⁻¹) respectivamente, e, decorridos 60 minutos, os três últimos grupos receberam i.g., CCl₄ (0,75 mL.kg⁻¹ de peso corporal, dissolvido em óleo de oliva a 50%, v/v). O tempo de sono induzido pelo pentobarbital (32 mg.kg⁻¹ de peso corporal), intraperitonealmente administrado, foi registrado 120 minutos após a administração do CCl₄ nos respectivos grupos, sendo a atividade hepatoprotetora calculada de acordo com a fórmula de ANAND *et al.* (1992). Os resultados mostraram que o EHE de *S. paniculatum* L. não evocou atividade hepatoprotetora nas diferentes doses utilizadas, porém havendo uma potencialização do efeito depressor central manifestado pelo prolongamento do tempo de sono induzido pelo agente barbitúrico.

SANTOS *et al.* (1995), pesquisaram a atividade antissecretora gástrica do *S. paniculatum* L. e seus extratos semi-purificados, utilizando raízes nas quais foram extraídas com diclorometano em Soxhlet fornecendo a fração FD (solúvel em diclorometano) e a FA extraída por infusão em água do resíduo. Neste estudo o FD foi novamente particionada em água, fornecendo as frações FDaq e FR (insolúvel). Administrados na luz gástrica de camundongos com ligadura pilórica a FDaq inibiu a secreção ácida basal em 79% ao contrário da FA que não mostrou atividade neste teste. Na preparação de glândulas oxínticas isoladas da mucosa gástrica de coelhos, o acúmulo de ¹⁴C-aminopirina (¹⁴C-AP), indicativo da secreção ácida,

aumentou de 3,4 vezes na presença de betanecol (10^{-4} M) e de 2,2 vezes na presença de histamina (10^{-6} M). A incubação prévia da Fdaq (10 a $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$) inibiu de 42-53% o acúmulo de ^{14}C -AP induzido pelo betanecol, sem alterar o acúmulo estimulado pela histamina. Pelo fato da fração ativa Fdaq isolada da planta bloquear apenas a secreção de ácido induzido pelo betanecol, sugeriu-se uma atividade antissecretagoga a nível de receptores muscarínicos, posterior a interação agonista-receptor, permitindo-se descartar efeitos a nível de receptores H_2 ou na bomba $\text{H}^+\text{-K}^+\text{ATPase}$ das células oxínticas.

Mais recentemente, DIEHL *et al.* (1996), avaliaram a atividade antissecretora gástrica de produtos fitoterápicos comercializados como jurubeba, comparando as espécies *S. paniculatum* L. e *S. fastigiatum* (esta última sendo utilizada na falsificação de *S. paniculatum* L.). Para tanto dois chás e uma tintura de jurubeba foram comparadas. O método utilizado foi o estômago *in situ*, adaptado para o camundongo Swiss, fêmeas. Foram avaliadas as atividades dos infusos dos chás C_1 e C_2 e da tintura T_1 , frente aos agonistas de secreção de histamina e betanecol, além dos extratos hidroalcoólicos (EHA, 400 mg.kg^{-1}) das folhas, raízes e ramos de *S. paniculatum* L. e *S. fastigiatum*. A administração intraduodenal (id) do infuso do chá C_1 inibiu a acidez total provocada pela histamina em torno de 55%, porém para o betanecol não houve inibição significativa. Já o infuso C_2 reduziu aproximadamente em 25% a acidez total estimulada pelo betanecol. Quanto a tintura, não se observou redução da acidez induzida pela

histamina, sendo que para o betanecol houve uma acentuação de tal efeito por este agonista.

A administração id do EHA das folhas de *S. paniculatum* L. inibiu em torno de 31% a acidez estimulada por histamina, porém os EHA das raízes e ramos não. O EHA das raízes de *S. paniculatum* L. inibiu a acidez estimulada pelo betanecol em aproximadamente 31%. O EHA das folhas inibiu a acidez provocada pelo betanecol em torno de 24% e o EHA dos ramos em torno de 15%, porém não sendo estatisticamente significantes em relação ao betanecol. Nas condições experimentais utilizadas, os resultados indicaram que o chá C₁ apresentou atividade anti-secretora gástrica frente ao agonista histamina, sugerindo ação a nível de receptores do tipo H₂, enquanto que a inibição da acidez provocada pelo chá C₂ frente ao betanecol sugeriu mecanismo de ação ligado ao aumento da concentração de Ca⁺⁺ intracelular. Quanto a tintura T₁, nenhum dos estímulos de secreção foram inibidos, sendo que frente ao betanecol observou-se aumento da acidez, indicando efeito contrário ao esperado. Portanto os resultados obtidos para as folhas e as raízes de *S. paniculatum* indicaram atividade antiácida, enquanto que para seus ramos não.

SANTOS & LAPA (1996), cientes dos efeitos antiácidos do extrato de *Solanum paniculatum* L., procuraram avaliar o efeito do extrato aquoso (EA) da raiz de *S. paniculatum* L. sobre o fluxo biliar de ratos. As raízes foram infundidas numa concentração à 5% a uma temperatura de 73 °C, e o material extraído concentrado à vácuo a 50 °C sendo posteriormente

liofilizado. Os animais neste experimento foram tratados com o EA ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$, p.o.) agudamente ou cronicamente ($1,0 \text{ g.kg}^{-1} \cdot 14 \text{ dias}^{-1}$, p.o.), sendo que após anestesia o ducto biliar foi isolado e canulado. Imediatamente após a canulação, amostras de bile foram coletadas a cada 10 minutos, durante 3 horas, e o volume medido por gravimetria. Nos experimentos agudos, a primeira hora de coleta antes da administração foi considerada como período controle. Os efeitos do EA da raiz ou do veículo (controle-água) foram testados em paralelo durante 1 hora após a administração gástrica. Os resultados obtidos não confirmaram a indicação popular da raiz de *S. paniculatum* L., como colerético.

SANTOS *et al.* (1996), também procuraram realizar o estudo farmacológico dos efeitos do extrato aquoso (EA) da raiz de *S. paniculatum* L. no fluxo biliar, agora utilizando cobaias. Os animais, machos, foram anestesiados e o ducto biliar cateterizado. Decorridos 30 minutos da coleta basal, os animais foram tratados com o veículo (controle-água, p.o.) e após 30 minutos, com EA ($0,25$; $0,5 \text{ g.kg}^{-1}$, p.o.). O volume de bile coletada ($\text{mL.min}^{-1} \cdot 100 \text{g}^{-1}$) em condições basais não foram diferentes do excretado após o tratamento com EA para ambos os regimes de dose. Estes pesquisadores concluíram que as doses de *S. paniculatum* L. que exibiam ação antissecretora ácida não interferia com a secreção biliar em cobaias.

O efeito do extrato aquoso bruto (EAB) de *S. paniculatum* L. obtido a partir das raízes a quente (2% à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ por 30 min) em úlcera crônica induzida, foi estudado por CAMILO *et al* (1996). As úlceras crônicas

foram induzidas em ratos após a injeção de 50 μL de ácido acético a 10% na subserosa da parede glandular posterior de ratos e ratas, e como controle 50 μL de NaCl 0,9% na parede anterior. Os animais neste experimento foram agrupados e tratados diariamente por via oral (p.o.) com 100; 250; 500 mg.kg^{-1} do EAB ou volume igual de água destilada (controle). Após 7 dias de tratamento, os animais eram necropsiados e o processo de ulceração analisado macroscopicamente. A intensidade de lesão gástrica foi quantificada de acordo com o grau de hiperemia, edema, número de petéquias, pontos hemorrágicos, espessamento da borda da lesão e presença de úlcera. Os animais tratados com 100 mg.kg^{-1} do EAB não apresentaram alteração do índice de lesão gástrica comparativamente ao grupo controle. As ratas tratadas com 250 ou 500 mg.kg^{-1} do EAB apresentaram redução da lesão gástrica. Nos machos os efeitos foram mais intensos que nas fêmeas, com redução do índice de lesão gástrica de 64% e 77% para as maiores doses. No presente trabalho foi possível concluir que o tratamento com EAB de *S. paniculatum* L. acelerou a cicatrização das lesões gástricas crônicas, à semelhança do observado nas úlceras agudas.

Quanto ao emprego medicinal da jurubeba, não há, até o momento, nenhuma exploração racional, sendo muito utilizada na medicina popular, principalmente para "problemas de fígado" (KAWATA, 1978).

O utilização desta espécie é bem difundida em todo o território nacional, onde é comercializada inclusive como bebida aperitivo. Popularmente, as folhas, frutos e raízes são utilizados na forma de tintura

alcoólica, extrato fluído, vinho, extrato mole e seco, decotos, sucos e emplastos. O suco dos frutos é utilizado como diurético, antiperiódico, desobstruente e tônico, empregando-se para combater a icterícia, inflamação do baço, catarro da bexiga e a clorose. Externamente aplicam-se as folhas machucadas sobre úlceras e na forma de emplastro em pacientes com hepatite. A raiz é utilizada nas dispepsias atônicas e na diabetes. No ingurgitamento (enfartamento ou obstrução) do fígado é indicado como desobstruente, a partir de preparados das folhas, frutos e raiz, além serem utilizados nos abscessos internos, tumores de útero e abdômen. Nas hidropisia, utilizam-se as folhas e raiz, na falta de transpiração, o chá é preparado a partir das raízes, sendo as folhas empregadas na febre intermitente (PENNA, 1930; COSTA, 1940; COIMBRA, 1942; CARVALHO, 1970; CRUZ, 1979; BALBACH, 1980; CORRÊA, 1978; SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982).

4.2. *Solanum variable* Mart.

A espécie *Solanum variable* Mart é uma planta que também pertence a família das Solanáceas, regionalmente recebendo inúmeras denominações vulgares, tais como, joveva, jurubeba, jurubeba-da-boa (SC); jurubeba-falsa, jurubeba-velame, japicanga (SP); jupicanga, juveva (MG); velame-de-capoeira (RS) (BLANCO & FRATTINI, 1978).

É um arbusto característico e exclusivo da zona dos pinhais e campos, demonstrando pronunciadas afinidades pela sub-sera (heliófita), sobretudo nas zonas florestais, possuindo vasta e mui expressiva difusão pelo planalto catarinense.

É uma espécie indiferente quanto as condições físicas do solo, ocorrendo com grande abundância e alta frequência nos campos, quer úmidos, quer secos, chegando por vezes, a formar agrupamentos quase puros. Embora a sua vasta distribuição se verifique com relativa uniformidade pelas diversas zonações, parece contudo, haver, às vezes, pequenas preferências por solos úmidos, uma vez, que amiúde, se torna abundante ao longo de banhados.

Geralmente é muito freqüente ao longo das matas de galeria, bem como na orla de capões. Igualmente é ainda muito freqüente no secundário, onde chega formar associações quase puras, bastante densas. Em virtude das periódicas limpas efetuadas ao longo das estradas é uma das espécies invasoras mais expressivas desta sub-sera, contribuindo assim, vivamente na formação da paisagem ao longo das rodovias do planalto catarinense.

Nas sub-matas dos pinhais, ocorre principalmente nas clareiras, caminhos abertos nas matas e capoeiras dos primeiros estágios (SMITH & DOWNS, 1966).

Sua área de dispersão se dá em todo o Estado de Santa Catarina, menos nos municípios litorâneos do centro e norte deste Estado,

Minas Gerais, Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul, chegando a países vizinhos como o Paraguai e Uruguai (SMITH & DOWNS, 1966; CORRÊA, 1984; SACCO, 1985).

De acordo com sua composição farmacológica, foi isolado de suas folhas baixas concentrações do glicoalcalóide solasodina (0,1%) (WEILER *et al.*, 1980).

Dentre as aplicações terapêuticas desta planta, destaca-se, a utilização das folhas e raízes como tônico e diurético e no combate da icterícia e doenças hepáticas (CORRÊA, 1984).

4.3. *Solanum nigrum* L.

Solanum nigrum L. é outra espécie que pertence a família das Solanáceas, que regionalmente recebe inúmeras denominações vulgares, tais como, aguaraguá (SC); aguaraguiá (MA); aguaraguiá, araxim (SC); bracainha, cambrainha (RJ); carachichú (SP); caraxim, caraxiná (SC); chumbinho (MG); erva-de-bicho (MG, RJ, SC); erva-moura (GO, MG, MT, PE, RJ, RS, SC, SP); falsa-pimenta-do-reino (MG); guaraquinha (SC); maria-preta (MA, MG, RS, SP); maria-pretinha, pimenta-de-cachorro (MG, SC); pimenta-de-galinha (BA, RJ, SC) e pimenta-de-rato (SC) (CARVALHO, 1958; LIMA, 1967; SMITH & DOWNS, 1966; SACCO *et al.*, 1975; LORENZI, 1976; BLANCO & FRATTINI, 1978; FERREIRA & LACA-BUENDIA 1978; FERREIRA, 1979).

Dentre suas sinonímias estrangeiras pode-se destacar: yerba mora, Argentina, Chile, Colômbia, República Dominicana e Uruguai; yerba pequeña, em El Salvador; black nightshade, hound's berry, poison berry, stubbleberry, wounderberries, nos Estados Unidos; crève chien, herbe à la gale, herbe aux magiciens, herbe maure, morelle des jardins, morelle noire, raisin de loup, na França; black nightshade, common nightshade, na Inglaterra; morella, solano-nero e solatro, na Itália; schwarzer nachatten, na Alemanha; nochnaiaten, na Rússia; tomate del diablo, na Argentina, cejaya-cejaya, dos índios Peruanos; bonknine e ham-did, em Marrocos; gurkhi, gurmakai, kamchê, kangwan, na Índia; karezzi, no Baluchistão; kalukanweriya, em Ceilão; kakamachi, em Bengala; mako, no Indostão; cay-lu-lu-duc, na Conchinchina; hierba cotones, hierba mora, mocuy, mora, moradello de santa lúcia, morella negra, morella vera, quilete, solano negro, tomaquera borda, tomaquera del dimoni, tomate del diablo, tomatera del diablo, tomatillos, na Espanha; long k'oei, na China; uva-de-santa-maria, em Cabo Verde; djgoto-forô (em fulla), suludjto (mandinga), em Guiné; lung-kiv'ai-t'in k'e chi (chinês), em Macau; erva de santa maria, em Madeira; bredos, erva moira, erva moura, erva moura mortal, erva noiva, em Portugal; pingendo-G e kaligeri-N no Nepal (QUER, 1962; CORRÊA, 1984; CAMARGO, 1985; ROTH *et al.*, 1987; MANANDHAR, 1994).

É uma erva ruderal, cuja distribuição geográfica ocorre em todo o país, principalmente em áreas cultivadas, (arroz, batatinha, trigo, pastagens, cana-de-açúcar, feijão, milho, morango, café, algodão e cítricas), terrenos

baldios, proximidades de habitações, jardins e margens de estradas, preferindo solos férteis, úmidos e sombreados, vegetando, exuberantemente, durante os meses quentes do ano, sendo um problema nas culturas anuais do estado do Paraná (SACCO *et al.*, 1985), ocorrendo na Europa cosmopolita e ruderal (CORRÊA, 1984).

Entre os principais constituintes químicos encontrados na espécie *Solanum nigrum* L., se destaca os alcalóides esteroidais: α -solanigrina, β -solanigrina, solasonina, β -solamargina, solanina, solasodina, solanidina, α -solamargina (VIEIRA & FREIRE DE CARVALHO, 1993), α -solasonina (RIDOUT *et al.*, 1989), *N*-metilsolasodina, 12- β -hidroxisolasodina, tomatidenol, solanocapsina, além de uma sapogenina, a tigogenina (DOEPKE, 1987). Dois flavonóides quercetínicos foram também isolados (quercetina 3-O- β -glucosil- β -galactoside e quercetina 3-O- α -ramnosil- β -galactoside) (NAWAR *et al.*, 1989). Outras substâncias químicas identificadas foram o β -fitosterol, ácido palmítico, palmitoléico, esteárico e linoléico (HANNA *et al.*, 1996), além de algumas vitaminas como o ácido ascórbico, ácido nicotínico, β -caroteno e riboflavina (NADEEM *et al.*, 1997).

Em estudos das plantas medicinais da Paraíba, AGRA & BARBOSA FILHO (1990), apresentaram uma relação das 150 espécies usadas na medicina popular daquele estado, e as submeteram a uma triagem fitoquímica, organizando os resultados numa tabela com informações referentes à nomenclatura botânica, nome popular, usos, órgão da planta utilizado e resultados dos testes para detecção de hemólise, alcalóides,

flavonóides, esteróides, saponinas e taninos. Dentre as espécies pesquisadas, se apresentava *Solanum nigrum* L., cujos resultados fitoquímicos de suas folhas revelaram em teste hemolítico, hemólise imediata. Na análise da concentrações esteróides os valores se situaram entre 0,5-0,25 a 1-2 mg.ml⁻¹.2 ml⁻¹. Na prova para detecção de alcalóides os resultados foram negativos, já com o teste para flavonóides as concentrações variaram de menos de 0,1 a 00,1 mg e para taninos encontraram valores moderados de precipitação.

Dos alcalóides esteroidais, a solasodina se configura como o membro mais importante do grupo, sendo encontrada principalmente nas folhas e frutos desta espécie (BRADLEY *et al.*, 1978; KAUL & ZUTSHI, 1982).

Todas as partes verdes da planta são consideradas venenosas e contém, em proporção maiores ou menores os glicosídeos da solanina (CORRÊA, 1984).

Relatos de toxicidade com esta planta foram observados na África do Sul em 1931, em coelhos e ovelhas, na qual havia a suspeita de seu consumo. Em coelhos a análise *post-mortem* revelou hiperemia pronunciada a nível de pulmões e mucosa gástrica e distensão de ambos os ventrículos do coração, com a presença de coágulos a nível intravascular. Já em ovelhas envenenadas, conseguiu-se observar os sinais precoces da intoxicação, cujas características evidenciavam pela marcha instável (incoordenação motora) e convulsões que evoluíam para a morte. À autópsia, observou-se quadro de enterite leve, degeneração leve do fígado, hiperemia e

degeneração leve do baço e do rim e, em alguns casos, nefrite pronunciada particularmente a nível cortical (WATT, 1993).

Na Austrália apesar de não ser utilizada como forragem na alimentação animal, não é considerada venenosa, sendo consumida pelos animais em casos de restrição nutricional. Uma justificativa para o consumo impune em algumas regiões e não em outras poderia ser decorrente da confusão na identificação da espécie responsável pelo quadro tóxico (WATT, 1993).

Nos Estados Unidos raramente o gado consome tal planta, porém foram registrados casos de envenenamento em bezerros, ovelhas, cabras porcos, galinhas, patos e gansos. Intoxicação fatal de patos e gansos por ingerirem os frutos estão notificados (WATT, 1993).

As flores e folhas desta espécie são consumidas na forma de ração animal em muitas regiões da África (MOUNDIPA & DOMNGANG, 1991).

Uma descrição interessante, sobre a ação tóxica do glicoalcalóide, solanina, encontrado nesta planta, pode ser encontrada na literatura (HOEHNE, 1978), onde descreve-se a ação convulsivante desta com promoção de paralisia e finalmente morte de pintos em ensaios biológicos.

QUER (1962), descreve, que a experimentação fisiológica tinha provado que a solanina agia como um veneno das placas motoras terminais, entorpecendo o bulbo, a medula e os nervos, determinando paralisia das extremidades dos nervos sensitivos e motores. Em função de tais

observações, vários autores passaram a considerar esta planta como um excelente analgésico, em função de seus efeitos depressivos sobre o bulbo e medula, causando em última instância parestesia de nervos motores e analgesia dos sensitivos, especialmente em sintomas dolorosos causados pela lesão dos cordões medulares.

Portanto a solanina, um dos glicoalcalóides desta planta, agiria como narcótico sobre o cerebelo, bulbo e a medula espinhal paralisando as extremidades dos nervos sensoriais e motores (CORRÊA, 1984).

Apesar de relatos de toxicidade a planta depois de cozida, perde suas propriedades tóxicas (HOENE, 1978; BALBACH, 1980; CAMARGO, 1985).

É considerada para o ser humano uma planta tóxica de ação sedativa e narcótica (CAMARGO, 1985).

Casos de intoxicação humana que se têm conhecimento na Austrália, são de crianças que comeram o fruto provavelmente verde e como consequência apresentaram um quadro brando de náusea, diarreia e dor epigástrica (WATT, 1993).

Na Alemanha já foram notificados casos de crianças intoxicadas pela ingestão de bagas verdes desta planta. O consumo de 6 a 10 bagas foi o suficiente para produzir sinais de intoxicação (ROTH, 1987).

Na Europa existem relatos de intoxicação de crianças, cuja utilização primária da planta foi como hipnótico (WATT, 1993).

Nos Estados Unidos, a concentração do glicoalcalóide (solanina) é considerado tão pequeno no fruto maduro, que torna impossível associar toxicidade ao consumo de tal parte vegetal (WATT, 1993).

Para os efeitos tóxicos da planta e fruta verde, existe uma correlação entre a concentração de solanina e de um alcalóide denominado "midriático", e não pela ação do ácido hidrocianico como alguns autores acreditavam anteriormente. Um aspecto interessante associado ao alcalóide midriático, é que acompanhando o efeito que origina o nome desta entidade, cicloplegia, garganta seca, diminuição da produção de suor também concorrem para sua toxicidade porém sem alteração do ritmo cardíaco (WATT, 1993).

O fruto é considerado tóxico na América do Norte, Alemanha e Austrália. Entre crianças da África do Sul, Europa e Ásia é freqüente o conhecimento de que o fruto verde é venenoso (CAMARGO, 1985; WATT, 1993).

Os sinais e sintomas de envenenamento por *Solanum nigrum* L. são descritos por vários observadores e escritores. E em virtude da heterogeneidade das descrições, vislumbra-se duas possibilidades: a) grandes variações na concentração de alcalóide solanina nos casos registrados; b) Confusão na espécie vegetal responsável pelo quadro de intoxicação.

Existem referências constantes na literatura que corroboram para estas duas possibilidades. Também tornou-se evidente, que em muitos dos

casos havia realmente a participação preponderante do glicoalcalóide solanina e o alcalóide midriático. Vários exemplos de manifestações tóxicas podem ser destacados:

1º) no homem e nos animais, observa-se estupefação, incoordenação motora, perda de sensibilidade e consciência, câimbras, dilatação pupilar, às vezes convulsão. Morte é rara e está intimamente relacionada com paralisia respiratória;

2º) na Califórnia e outras regiões a intoxicação doméstica tem se caracterizado por perda da coordenação motora, diarreia, anorexia, fraqueza e sede;

3º) outras manifestações incluem, narcose, paralisia, salivação e vômitos (WATT, 1993).

A solanina em estudos bem controlados demonstrou alta toxicidade em camundongos, ratos e coelhos; quando administrada por via parenteral ($5-25 \text{ mg.kg}^{-1}$). Contudo a administração oral (1 g.kg^{-1}) em camundongos não produziu efeito tóxico. A solanina exibiu semelhança com os glicosídeos cardíacos por produzir efeito inotrópico positivo no ventrículo isolado de sapo e quando em doses tóxicas por promover em coelhos o aparecimento de extrasístoles e fibriliação ventricular. (SANTOS, 1996).

Outro efeito imputado a solanina é o de produzir hiperglicemia em ratos intactos e hipoglicemia em ratos adrenalectomizados. O efeito hiperglicemiante parece ser mediado pela estimulação das adrenais porque o

pré-tratamento com β -bloqueadores adrenérgicos inibe o aparecimento do açúcar no sangue de ratos tratados com solanina. Estes achados foram sexo-dependente e apenas observados quando a administração ocorreu por via intraperitoneal (SANTOS, 1996).

Outra ação importante dos alcalóides esteroidais isolados de diversas espécies de *Solanum* é sua atividade anticolinesterásica. FUACHER & MONNET (1967) realizaram o estudo cinético da inibição da colinesterase plasmática de cavalos pelos alcalóides solanina e tomatina, demonstrando a importância do grupo esteroidal para a atividade anticolinesterásica (SANTOS, 1996). RODDICK, (1989), demonstrou a atividade inibidora da acetilcolinesterase de humanos e de bovinos pelos glicoalcalóides α -solanina, α -chaconina e solamargina, onde se observou maior eficácia para os dois primeiros (SANTOS, 1996).

PATIL *et al.*, (1972) demonstraram a ação tóxica da solanina, administrada intraperitonealmente em camundongos, e calcularam em 32 mg.kg^{-1} a sua DL_{50} . Em coelhos, a concentração de 20 mg.kg^{-1} provocou morte dentro de 24 horas e inibiu moderadamente a colinesterase. Já em cães, a dose de 6 m.kg^{-1} a intervalos de 10 minutos inibiu a colinesterase plasmática com posterior recuperação. Na dose de $200 \text{ mg.100 mL}^{-1}$, a solanina inibiu completamente o crescimento do fungo *Trichoderma viride* (SANTOS, 1996).

Portanto os efeitos tóxicos produzidos pela solanina e por outros alcalóides esteroidais podem ser explicado pela sua atividade

anticolinesterásica e também pela presença de saponinas que alteram a permeabilidade das membranas biológicas. Foi demonstrado que a solamargina pode romper a membrana de lipossomas formados por colesterol e fosfatidilcolina e que a mistura de solamargina e de solasonina produz um marcante efeito sinérgico. Em protoplastos preparados de fungos e em eritrócitos bovinos, ambos alcalóides produziram a ruptura da membrana (SANTOS, 1996).

SHOEB *et al.* (1990) testaram os pós secos de algumas plantas da flora egípcia, contra caracóis encontrados neste país, tais como *Biomphalada alexandrina*, *Butinus truncatus* e *Lymnaea cailliauda*. De todas as plantas ensaiadas neste teste de toxicidade, a espécie *Solanum nigrum* L. foi a que evidenciou maior atividade moluscocida sobre os organismos alvo.

MOUNDIPA & DOMNGANG (1991) conduziram um estudo, onde ratas albinas foram mantidas durante 10 dias com dieta a base de folhas de *Solanum nigrum* em dois níveis de dose (200 e 600 mg.kg⁻¹ de peso corporal). Simultaneamente à dieta, recebiam diariamente injeções intraperitoneal de aflotoxina B₁ (AFB₁) diluída em propilenoglicol (0,2 e 0,4 mg.kg⁻¹ de peso corporal) substância esta hepatotóxica e cancerígena. No final do experimento todos os animais foram sacrificados e amostras de sangue e tecido hepático foram submetidos a uma bateria de testes. Os resultados mostraram que os animais alimentados com *S. nigrum*, tiveram um aumento na atividade das enzimas aminopirina *N*-desmetilase, uridino difosfato glucuroniltransferase e glutatião *S*-transferase, com conseqüente

aumento na biotransformação da AFB₁. Os animais tratados exibiram níveis séricos menores de fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase e gama-glutamil transferase para a dose de 200 mg.kg⁻¹, porém na dose maior da planta (600 mg.kg⁻¹), apesar do aumento da atividade das enzimas citadas anteriormente níveis os níveis de alanina aminotransferase e gama-glutamil transferase não diferiram quando comparados aos grupo controle tratado somente com AFB₁.

SHARMA *et al.* (1993) analisaram o efeito de uma preparação polihierbal em cabras submetidas à hepatopatia medicamentosa. Para tanto os animais receberam em administração intravenosa única, paracetamol (400 mg.kg⁻¹ de peso corporal). A eficácia de uma preparação polihierbal (contendo partes iguais de *Solanum nigrum*, *Berberis aristata* e *Achyranthes aspera*) foi estudado. Esta formulação foi administrada oralmente (1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal) durante 10 dias após a intoxicação. Parâmetros hematológicos, bioquímicos e de retenção de bromossulféia foram analisados em diversos intervalos de tempo, e os parâmetros histopatológicos após 20 dias. Os resultados revelaram que os animais tratados com o preparado polihierbal apresentaram uma efetiva reversão do quadro de hepatopatia induzida pelo paracetamol, através da análise de leucócitos totais, colesterol, uréia, lipídeos totais, triglicérides, bilirrubina, globulina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, γ -glutamil transferase, hemoglobina, eritrócitos totais, proteínas totais, albumina, pela prova de retenção plasmática da bromossulféia e nas análises histopatológicas.

CHAUHAN *et al.* (1994), analisaram os efeitos de uma formulação polihierbal (LIV.52) utilizado como agente hepatoprotetor, sobre o metabolismo do etanol em ratos expostos cronicamente à este agente. A eficácia desta formulação contendo partes iguais de *Achillea millefolium*, *Capparis spinosa*, *Cassia occidentalis*, *Cichorium intybus*, *Solanum nigrum*, *Tamarix gallica* e *Terminalia arjuna* foi pesquisada. No presente experimento um grupo de animais recebeu cronicamente (42 dias), adicionados em seus bebedouros, álcool etílico (EtOH) a 6% (v/v), sendo que 43º dia uma dose única oral de 5 mL de etanol a 5% foi administrado e, decorridos 30 min coletou-se sangue dosando-se os níveis de etanol e aldeído acético. O resultado dos animais tratados com EtOH revelaram níveis de EtOH estatisticamente inferiores quando comparados ao de aldeído acético. Em outro grupo de animais a relação entre a concentração de EtOH:aldeído acético foi monitorizado. Ratos cronicamente tratados (42 dias) com EtOH a 6% em seus bebedouros, apresentaram à análise, um aumento de atividade das enzimas de fase I e decréscimo de atividade das enzimas de fase II. Fato interessante é que a administração de LIV.52 nas últimas duas semanas, foi capaz de reverter os níveis de concentração do EtOH em relação ao acetaldeído, de modo que, estes foram estatisticamente comparáveis aos observados no 1º dia quando de leituras basais. Um outro grupo de animais, a exposição crônica (180 dias) com EtOH a 6%, evidenciou uma deterioração adicional no metabolismo do etanol como demonstraram as experiências de 42 dias, e a administração de LIV.52 neste modelo crônico foi capaz de

normalizar a correlação entre EtOH:acetaldeído, semelhante ao início do tratamento (valores basais). De acordo com estes autores os achados no presente trabalho corroboram com ensaios clínicos em usuários crônicos de EtOH encontrados na literatura, e, segundo estes, o presente protocolo experimental parece se mostrar útil na avaliação da eficácia de formulações polisherbais no metabolismo do álcool etílico.

SUFTANA *et al.* (1995) conduziram uma análise, utilizando extratos brutos de plantas consideradas hepatoprotetoras, dentre elas a espécie *Solanum nigrum*. Estes estudaram primariamente os efeitos de radicais livres sobre a integridade de ácidos nucleicos (DNA). Para tanto o extrato bruto foi adicionado em um meio contendo células de timo de bezerro associados a um sistema gerador de radicais livres. Sabendo-se que os radicais livres são capazes de atingir o centro do açúcar constituinte do desoxirribonucleotídeo oxidando-o e conseqüentemente destruindo a fita de DNA, o extrato bruto foi capaz de atenuar e inibir o dano oxidativo na molécula de DNA, de modo dose-dependente. Diante de tais achados estes autores sugeriram o efeito hepatoprotetor de tal espécie estaria associado a uma ação estabilizante sobre a integridade do DNA de células hepáticas lesadas por processos patológicos.

HANNA *et al.* (1996), quando da realização do screening fitoquímico dos extratos brutos de duas solanáceas (*Solanum nigrum* e *Solanum elaeagnifolium*), analisaram também o comportamento farmacológico e ação antimicrobiana de tais preparados.

Para tanto, trabalhando com órgãos isolados (jejuno e coração) avaliaram o comportamento destes extratos sobre a atividade mecânica muscular lisa do jejuno e musculatura estriada cardíaca de coelho. Os resultados obtidos demonstraram um efeito discreto sobre o tônus da musculatura jejunal, e moderado efeito relaxante no que diz respeito a amplitude no modelo de coração isolado. Estas duas solanáceas também foram submetidas a uma bateria de testes microbiológicos, onde ambas exibiram atividade antimicrobiana sobre *B. subtilis* e excelente atividade sobre *E. coli* e *S. aureus*.

HASEEB & BUTTOL (1996), procuraram avaliar uma possível propriedade nematicida de alguns membros da família *Solanaceae*. Utilizando extratos padronizados das raízes e brotos de várias espécies (dentre elas *S. nigrum*), constataram alta atividade nematicida de extratos obtidos dos brotos, cuja eficácia foi de 100% na indução da morte dos organismos (*Meloidogyne incognita*) na sua fase larval e adulta. Já para os extratos das raízes reduzido efeito nematicida foi observado.

NADEEM *et al.* (1997), analisaram o efeito do extrato bruto e suas frações (etanólica e éter de petróleo) obtidos a partir dos frutos do *S. nigrum*, sobre lesões hepáticas induzidas pelo CCl₄ e paracetamol. O extrato e suas frações foram administrados em vários níveis de doses em diferentes grupos, pela via oral durante nove dias. A hepatopatia pelo CCl₄ (1,0 mL.kg⁻¹) e paracetamol (2,5 g.kg⁻¹) foi realizado respectivamente no 7º e 8º dia de tratamento. No 10º dia todos os animais foram sacrificados para a coleta de

sangue para as determinações de aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, glutatião, glutatião-S-transferase e malonaldeído hepático. Análises histopatológicas de espécimes hepáticos também foram realizadas. O extrato bruto exibiu boa atividade hepatoprotetora, reduzindo significativamente os níveis de alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, além de restaurar as concentrações de glutatião depletado por estas hepatotoxinas, em todos os níveis de dose (5, 10 e 20 g.kg⁻¹). Já as frações etanólica e do éter de petróleo no presente estudo, evidenciaram respostas discretas sobre os parâmetros analisados. O extrato bruto do ponto de vista histopatológico foi capaz de reverter os indicativos teciduais de lesão pelo CCl₄, porém para o paracetamol de acordo com os achados histopatológicos não se observou efeito protetor. A hepatoproteção observada nas lesões induzidas pelo CCl₄, a restauração das concentrações hepáticas de glutatião e glutatião-S-transferase além da diminuição dos níveis de malonaldeído, sugeriram que a ação sobre as lesões hepáticas induzidas pelo CCl₄ e paracetamol poderia ser decorrente da inibição da peroxidação lipídica das membranas do hepatócito, pela varredura de radicais livres.

Mais recentemente, VENKATESWARAN *et al.* (1997) investigaram o efeito hepatoprotetor do preparado polihierbal LIVEX[®] (*Aconitum heterophyllum*, *Andrographis paniculata*, *Cassia occidentalis*, *Cichorium intybus*, *Embellia ribes*, *Piper longum*, *Solanum nigrum*, *Tamarix gallica*, *Tephrosia purpurea*) em ratos submetidos a hepatopatia pelo estolato de

eritromicina. No presente estudo, as unidades experimentais foram divididas em três grupos. O primeiro foi representado pelo controle. O segundo recebeu uma solução aquosa de estolato de eritromicina ($800 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) pela via intragástrica por 10 dias. O terceiro grupo recebeu simultaneamente, estolato de eritromicina e o LIVEX[®] ($5 \text{ mL} - 121,25 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$) intragástricamente também por 10 dias. No 11^o dia os animais foram sacrificados por decapitação para a coleta de sangue e ressecção de amostras de tecido hepático, para análises bioquímicas e histopatológicas foram realizadas. Os resultados revelaram que este preparado foi capaz de diminuir os níveis de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, bilirrubina total, colesterol, triglicérides, fosfolipídeos e ácidos graxos livres, induzidos pelo antibiótico macrolídeo, indicando um efeito protetor sobre a funcionalidade hepática. A microscopia, revelou que o grupo tratado com o LIVEX[®] apresentou reduzida congestão e dilatação vascular, com diminuição da dilatação sinusal e do infiltrado inflamatório a nível de hepatócitos, quando comparado ao grupo que recebeu somente o estolato de eritromicina. A diminuição da peroxidação lipídica das membranas dos hepatócitos induzida por intermediários reativos oriundos do metabolismo do estolato de eritromicina (nitrosoalcanos e radicais nitrosos), poderia justificar o efeito hepatoprotetor deste preparado polihierbal, com incremento do mecanismo de detoxificação hepático.

Acredita-se que o suco obtido de todas as partes da planta em perfeita maturidade, possa exercer uma ação analgésica e sedativa nas

crises dolorosas de diversas etiologias, da gastralgia às dores fulgurantes da tabes. É considerada como um ligeiro narcótico e analgésico, eficaz contra crises gastrálgicas, espasmos vesicais e dores hemorroidais, sendo utilizado também como anafrodisíaco, expectorante e antiescrofuloso devido a diaforese que produz. Na literatura esta planta encontra indicação como diurético e depurativo.

Dentre suas indicações terapêuticas, são utilizadas externamente: em aplicações das folhas frescas, machucadas sobre feridas e úlceras. Em decotos das folhas para lavar as partes inflamadas, intumescidas, irritadas, dolorosas, contra o prurido vulvar e hemorroidal. O cozimento das folhas na dose de um cálice, três vezes ao dia, é utilizado em problemas cardíacos, como “acesso de coração com batida forte” e em diarréias. Na forma de cataplasmas em úlceras dolorosas, tumores inflamatórios, furúnculos, flegmões, panarícios e queimaduras. Utilizam-se as folhas, também, em banhos, contra as dores reumáticas. Internamente, como produto homeopático, é indicado para o tratamento de: meningites, irritação cerebral, convulsões, cefaléias, delírio, tremores noturnos, vertigens, coriza, calafrios, calor e escarlatina. Alopaticamente, o suco e a alcoolatura desta planta é utilizada internamente para o tratamento da crise hepática (PENNA, 1930; QUER, 1962; HOENE, 1978; LACERDA, 1977; BALBACH, 1980; CORRÊA, 1984; CAMARGO, 1985; AGRA & BARBOSA FILHO, 1990; LEPORATTI & LATTANZI, 1994).

Na Europa a planta foi utilizada no tratamento de enxaquecas, úlceras, feridas, convulsões, como diurético e emético, e serviu de matéria prima para a indústria farmacêutica durante muitos anos na fabricação de cataplasmas (WATT, 1993).

Habitantes de certas regiões da África, como Maurício, Sotho Meridional e dos povos Zulu, tem no emprego das folhas como antidiarréico e cologago, além destes últimos utilizarem o infuso desta planta na forma de enemas no combate de transtornos abdominais em infantes (WATT, 1993).

No Sotho Meridional a raiz queimada é pulverizada em escarificações realizadas nas costas de pacientes sofrendo de lumbago (WATT, 1993).

No estado africano de Hewat, a planta se constitui em um remédio para aplicação cutânea em pústula de antraz (WATT, 1993).

Uma pasta da baga verde é geralmente utilizada pelo povo africano, especialmente entre o Xhosa, no combate da tinha. O Xhosa também utilizam a planta para desinfetar alimentos como carnes na qual se supõe ou estejam infectados pelo antraz (WATT, 1993).

Na Rhodésia Meridional, a planta se constitui em droga para o combate da malária, peste, desinterias entre outras distúrbios infecciosos. Estes utilizam o decoto da planta na forma de unguento no tratamento de úlceras cutâneas infectadas (WATT, 1993).

No Nepal aplica-se a pasta da planta na parte frontal da cabeça para o combate de cefaléias e febres (MANANDHAR, 1994).

Em Maurício o decoto das folhas é utilizado externamente para o alívio do prurido vulvar e hemorroidal, e na forma de cataplasma no combate da dor abdominal e inflamação da bexiga urinária (WATT, 1993).

Em Israel, os curandeiros utilizam esta planta em aplicações externas, sendo raramente empregada como agente narcótico (DAFNI, 1994).

Na Itália a planta é utilizada como antiespasmódico, diaforético, emoliente e sedativo (WATT, 1993). O fruto maduro (nigrescente), é utilizado em cerimoniais religiosos no Sotho Meridional e Tswana, em virtude de seu simbolismo estar associado às nuvens escuras e conseqüentemente às chuvas. A baga foi muito utilizada como tônico, nas doenças do coração, febres, diarréias, infecções oculares, distúrbios hepáticos entre outras manifestações patológicas (WATT, 1993).

As extremidades dos brotos desta planta são consumidos pelo Sotho Meridional, o Xhosa, o Ndebele e o africano em Nyasaland como legume e a folha adulta, embora amarga, consumida pelo Swati e o Pedí. Como alimento, a folha, ainda é estocada por estes povos como ração para épocas críticas em termos de alimento (inverno) (WATT, 1993).

As folhas após a fervura são utilizadas na culinária da França, Ilha de Uísque e em Maurício. As folhas novas contém $1\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de ácido ascórbico e que misturadas ao mel, são empregadas como coadjuvante no tratamento da tuberculose (CAMARGO, 1985).

Na Austrália e Ilha de Ascensão a fruto maduro, é consumido como guloseima, sendo inclusive utilizado como substituto à ameixa e passas no pudim tradicional (WATT, 1993).

O fruto maduro desta planta não é tóxico na Africa do Sul e é consumido pelo Zulu, o Xhosa, o Sotho, o Swati e o europeu e provavelmente por qualquer africano onde a planta seja encontrada (WATT, 1993).

Na Índia especialidades farmacêuticas associadas com várias espécies vegetais dentre elas o *Solanum nigrum* L. encontram-se disponíveis no comércio farmacêutico, na forma formulações polisherbais (LIV.52[®] - Himalaya Drug Co., Bombay; LIVARIN[®] - Patiala Ayurvedic Pharacy, Sirhind; LIVOKIN 1982[®] - Herbo-Med, Calcutta; LIVOMYN[®] - Charak Pharmaceuticals, India Pvt. Ltd.; M-LIV[®] - Indian Medicines Pharmaceuticals Corpn. Ltd., Mohan), para o tratamento uma ampla gama de distúrbios hepáticos (SHARMA *et al.*, 1991; NADEEM *et al.*, 1997).

4.4. *Solanum cernuum* Vell.

Solanum cernuum Vellozo, também conhecida sob outras sinónimas como *Solanum paleatum* Schott e *Solanum jubatum* Dun se constitui em uma solanácea tipicamente brasileira (SIQUEIRA-JACCOUD, 1963).

Esta espécie recebe inúmeras sinónimas vulgares, tais como: barba-de-bode, bolsa-de-pastor, braço-de-preguiça, braço-de-momo,

capoeira-branca, folha-de-onça, mercúrio-de-pobre, panacéia, velame, velame-de-folha-grande, velame-do-campo. (EDWALL, 1906; SAMPAIO, 1946; SIQUEIRA-JACCOUD, 1963; FERREIRA, 1975; FREIRE DE CARVALHO, 1989). Um aspecto interessante é sobre o nome vulgar "panacéia", cujo significado é "remédio para todos os males" (FERREIRA, 1975).

É uma solanácea que não é comum no interior, pois tem preferência pelas matas de serras e litoral (SIQUEIRA-JACCOUD, 1963), vegetando preferencialmente em terrenos úmidos e elevados (CORRÊA, 1984), estando amplamente distribuída em vários estados brasileiros, dentre os quais, o Espírito Santo (FREIRE DE CARVALHO, 1989), Goiás (RIZZINI, 1954), Minas Gerais (FREIRE DE CARVALHO, 1989; COSTA & FILHO, 1994), Rio de Janeiro (CARVALHO, 1989), Rio Grande do Sul (SIQUEIRA-JACCOUD, 1963; CORRÊA, 1984) e São Paulo (FREIRE DE CARVALHO, 1989).

O primeiro estudo químico realizado com esta espécie, foi desenvolvido por PECKOLT (1908), tendo encontrado na raiz 0,0267% de solanina, e uma substância denominada na época de "cernuumina", produto de uma solução acidificada do extrato alcoólico alcalinizado e extraído por éter de petróleo, clorofórmio, éter, álcool amílico a frio e a quente, aquecido, filtrado e novamente extraído com acetato de etila que após a evaporação resultava na presença de escamas com brilho metálico cristalino, na proporção de 0,166%. Tal substância foi posteriormente obtida diretamente

da solução ácida do extrato, por intermédio do acetato de etila. Esta segundo descrições organolépticas, era inodora, amarga com alta capacidade de produzir náusea.

A substância química em questão foi reconhecida mais tarde como sendo o glicoalcalóide solamargina (BRIGGS & CAMBIE, 1958).

SIQUEIRA-JACCOUD, (1963), realizando o estudo farmacognóstico do *Solanum cernuum* Vell, procedeu a testes microquímicos de material fresco das folhas, raízes e frutos, visando a localização de glicoalcalóides, tendo sido as substâncias encontradas na casca da raiz e no colênquima e floema das folhas, onde a concentração destes maior na raiz que nas folhas. Os frutos não revelaram a presença destas substâncias. Neste estudo também foram conduzidos ensaios através de reações microquímicas objetivando a identificação e localização de outros componentes, tendo sido encontrados o oxalato de cálcio, amido e ácido clorogênico.

VILEGAS *et al.* (1990), pesquisando as plantas da região de Araraquara-SP, investigaram a espécie *Solanum cernuum* Vell. Utilizando técnicas cromatográficas simples, procuraram obter glicoalcalóides, principalmente em cromatografia de coluna aberta que não envolvessem hidrólise ou derivatização das moléculas pesquisadas. Numa primeira etapa, iniciaram o exame do extrato etanólico das inflorescências fazendo comparação entre o método usual de extração de glicoalcalóides (com ácido acético/hidróxido de amônio/extração com solventes orgânicos) e outro

método usando a resina Amberlite XAD-2. Os resultados fornecidos pelo segundo método se revelaram mais satisfatórios, obtendo-se a mistura alcaloídica isenta de açúcares e outros contaminantes muito polares. O exame cromatográfico preliminar desta mistura sugeriu a presença de solamargina e solasonina.

No comércio varejista, a espécie *Solanum cernuum* Vell. ("panacéia") é encontrada cortada, em pedaços que variam de tamanho, mostrando fragmentos de caule e folhas, acondicionada em caixas de cartolina branca. No mercado atacadista é encontrada em fragmentos maiores ou menores, embalada em sacos de aniagem de tamanho e forma variáveis. Raramente, no entanto, são vistos flores e frutos imaturos. A ausência de frutos é decorrente da dessecação da planta, que acaba por destacar e se perder com a manipulação e acondicionamento (SIQUEIRA-JACCOUD, 1963). A droga comercializada e utilizada terapeuticamente, é constituída por folhas e ramos terminais, apesar de, as raízes também serem consideradas medicinais (PECKOLT, 1908; FERREIRA, 1975; CORRÊA, 1984).

Os bovinos e roedores apreciam as folhas como forragem (CORRÊA, 1984).

Dentre as indicações medicinais do *Solanum cernuum* Vell. destacam-se, as raízes como agente diurético e depurativo (FERREIRA, 1975) e para o tratamento de distúrbios da hemostasia (CORRÊA, 1984). As folhas e flores são indicadas no tratamento de distúrbios hepáticos atuando

como desobstruente, além da respectiva infusão se constituir em enérgico sudorífico, diurético e depurativo, útil nas gonorréias rebeldes, na sarna e várias outras moléstias da pele, bem como aplicadas externamente na cura de úlceras. Quando torrefatas, as folhas tornam-se aromáticas e dão um "chá" que pode substituir o da Índia outrora tomado por prazer e que parece ser valioso como calmante cardíaco, sucedâneo da digital, sem prejuízo de sua qualidade diurética (CORRÊA, 1984). Para o tratamento da gonorréia é utilizada também misturada com "anil" - *Indigofera anil* L. (HOENE, 1920). As raízes são apreciadas pelo povo, de modo mais conceituado que a raiz da salsaparrilha, como substituto da mesma na dose de 30 g de raiz para 720 g de decoto; três vezes ao dia, em taça de vinho (PECKOLT, 1908), esta última indicada popularmente como depurativa, diurética, sudorífica, no combate das doenças venéreas, exantemas, dermatoses, gota, reumatismo e boubas (BALBACH, 1982).

Esta espécie também é utilizada como tônico (FREIRE DE CARVALHO, 1989). A planta portanto se constitui em uma panacéia utilizada empiricamente pela população altamente reconhecida e respeitada (SIQUEIRA-JACCOUD, 1963).

4.5. MÉTODOS APLICADOS AO ESTUDO DE PLANTAS MEDICINAIS COM INDICAÇÃO HEPATOPROTETORA.

Muitos extratos de plantas são tradicionalmente utilizados na medicina popular para o tratamento de hepatopatias. A confirmação de sua atividade farmacológica hepatoprotetora, bem como a pesquisa do princípio ativo responsável por tal efeito requer adequados modelos que sejam confiáveis, rápidos, econômicos e principalmente aplicáveis na prática clínica (JOYEUX *et al.*, 1990).

Para tanto, inúmeros são os protocolos utilizando medicamentos, substâncias químicas ou derivados imunológicos induzindo a simulação de estados patológicos traduzido pela hepatite nas suas diversas manifestações.

A hepatotoxicidade induzida artificialmente por compostos químicos, pode envolver dois mecanismos, que parecem estar intimamente relacionados: (1) o medicamento, substância química ou metabólitos oriundos de sua biotransformação (hepatotoxinas intrínsecas) atuariam diretamente sobre o fígado e/ou suas estruturas adjacentes acarretando o surgimento de efeitos lesivos hepatocelulares ou (2) o medicamento, substância química, derivado imunogênico ou provavelmente, um de seus metabólitos, funcionariam como haptenos (hepatotoxinas idiossincrásicas) que, se conjugando com proteínas teciduais formariam complexos a nível de estruturas hepáticas favorecendo a atuação da imunidade celular e/ou humoral sobre tais complexos, com reflexos sobre a integridade e funcionalidade do hepatócito. O primeiro evento é denominado hepatotoxicidade intrínseca, direta ou previsível, sendo a segunda denominada hepatotoxicidade idiossincrásica, imprevisível ou indireta

(MITCHELL & LAUTERBURG, 1978; LUDWIG, 1980; LEWIS & ZIMMERMAN, 1989; KAPLAN, 1993; DeLEVE & KAPLOWITZ, 1995; ZIMMERMAN & ISHAK, 1995; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996).

A hepatotoxicidade intrínseca, direta ou previsível se caracteriza por: (1) ser dose dependente, (2) apresentar um intervalo relativamente curto entre a administração e a reação hepatotóxica e (3) induzir lesões reprodutíveis em animais de laboratório (LEWIS & ZIMMERMAN, 1989; KAPLAN, 1993; DeLEVE & KAPLOWITZ, 1995; ZIMMERMAN & ISHAK, 1995; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996).

A hepatotoxicidade idiossincrásica, imprevisível ou indireta seria caracterizada por: (1) ausência de dependência da dose para a lesão hepática; (2) apresentar um retardo entre a exposição ao agente e o surgimento da resposta lesional; (3) apresentar uma ampla gama de manifestações hipersensibilizantes (febre, erupção cutânea, eosinofilia) associadas ao efeito hepatotóxico; (4) exacerbar a reatividade imunológica do organismo e o grau de lesão hepática quando de exposições subseqüentes à toxina imunológica (LEWIS & ZIMMERMAN, 1989; KAPLAN, 1993; DeLEVE & KAPLOWITZ, 1995; ZIMMERMAN & ISHAK, 1995; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996).

O conhecimento atual da hepatotoxicidade química, aplicada em protocolos experimentais, foi derivado principalmente de relatos de casos médicos quando do uso terapêutico, por ingestão suicida ou acidental, ou

pela exposição ambiental de grupos de indivíduos à medicamentos ou substâncias químicas (TAMBURRO, 1979).

A pesquisa da atividade hepatoprotetora de extratos de plantas ou seus princípios isolados, podem ser conduzidos por intermédio de dois grupos de métodos a saber, os testes *in vivo*, na qual unidades experimentais (cães, camundongos, porcos da Índia, ratos) são submetidos à lesão hepática induzida por medicamentos, substâncias químicas ou derivados imunológicos, e os testes *ex vivo*, onde amostras de tecido hepático obtidos de animais saudáveis são homogenados em meios específicos originando suspensões de hepatócitos, sendo neste meio adicionado a hepatotoxina e as substâncias a serem testadas (**Classificação 1**).

in vivo

α -naftil isotiocianato

Aflotoxina B₁

Álcool etílico

Amanita phalloides

D-galactosamina

Eritromicina

Etinilestradiol

Fator colestático

Fração macromolecular proteica trinitrofenilada (TNP-LP₁)

Imipramina

Nortriptilina

Óleo de milho peroxidado

ex vivo

Ácido linoléico peroxidado

Aflotoxina B₁

Ascorbato ferroso

D-galactosamina

Difosfato de adenosina férrica (ADP/Fe⁺⁺⁺)

Diisopropilideno acetona

Eritromicina

Hidroperóxido cumênico

Imipramina

Nortriptilina

Peróxido de benzoíla

tert-butilhidroperóxido

Paracetamol	Tetracloroeto de carbono
Tetracloroeto de carbono	Tioacetamida
Tioacetamida	

Classificação 1. Classificação das substâncias químicas utilizadas em protocolos de hepatotoxicidade experimental de acordo com o tipo de teste empregado.

De acordo com o período de exposição das unidades experimentais ou de suas estruturas isoladas (hepatócitos) a uma toxina, pode-se sub-dividir em protocolos de intoxicação aguda e protocolos de intoxicação crônica (**Classificação 2**).

INTOXICAÇÃO AGUDA

α -naftil isotiocianato
 Ácido linoléico peroxidado
 Aflotoxina B₁
 Álcool etílico
Amanita phalloides
 Ascorbato ferroso
 D-galactosamina
 ADP/Fe⁺⁺⁺
 Diisopropilideno acetona
 Eritromicina
 Etinilestradiol
 Fator colestático
 TNP-LP₁
 Hidroperóxido cumênico
 Imipramina

INTOXICAÇÃO CRÔNICA

Álcool etílico
 Etinilestradiol
 Tetracloroeto de carbono
 Tioacetamida

Nortriptilina

Óleo de milho peroxidado

Paracetamol

Peróxido de benzoíla

tert-butilhidroperóxido

Tetracloroeto de carbono

Tioacetamida

Classificação 2. Classificação das substâncias químicas utilizadas em protocolos de hepatotoxicidade experimental de acordo com o período de exposição à hepatotoxina.

Nos protocolos de intoxicação aguda, as unidades experimentais, são expostas por um curto período de tempo à medicamentos, substâncias químicas ou derivados imunológicos, administrados intragástricamente, intraperitonealmente ou subcutâneamente.

A lesão hepática aguda induzida experimentalmente por medicamentos, substâncias químicas ou derivados imunológicos poderá dar origem a lesão citotóxica (hepatocelular)(lesão evidente dos hepatócitos) ou lesão colestática, manifestada por diminuição do fluxo de biliar e icterícia, porém com discreta lesão do parênquima, ou simultâneamente a lesão citotóxica e colestática (ZIMMERMAN & ISHAK, 1995) (**Classificação 3**).

LESÃO CITOTÓXICA LESÃO COLESTÁTICA LESÃO MISTA

Ácido linoléico peroxidado	Fator colestático	α -naftil isotiocianato
Aflotoxina B ₁		Etinilestradiol
Álcool etílico		Paracetamol
<i>Amanita phalloides</i>		
Ascorbato ferroso		
D-galactosamina		
ADP/Fe ⁺⁺⁺		
Diisopropilideno acetona		
Eritromicina		
TNP-LP ₁		
Hidroperóxido cumênico		
Imipramina		
Nortriptilina		
Óleo de milho peroxidado		
Paracetamol		
Peróxido de benzoíla		
<i>tert</i> -butilhidroperóxido		
Tetracloroeto de carbono		
Tioacetamida		

Classificação 3. Classificação das substâncias químicas utilizadas em protocolos de hepatotoxicidade experimental de acordo com o tipo de lesão induzida.

A lesão citotóxica (também denominada citolítica) inclui a necrose (regional, difusa ou extensa), inflamação com infiltrado, tumefação turva do hepatócito, esteatose ou todas estas manifestações conjuntamente. A

necrose do parênquima hepático determina a icterícia hepatocelular. A síndrome e os valores bioquímicos lembram a hepatite viral. Os níveis de ALT e AST estão aumentados de oito a cem vezes (ZIMMERMAN & ISHAK, 1995).

A esteatose aguda, causada por toxinas em protocolos de tratamento agudo pode evidenciar aspectos clínicos e bioquímicos que lembram a infiltração gordurosa aguda do fígado na gravidez e a síndrome de Reye a qual simula na histologia. Nestas afecções, a esteatose é microvesicular. Em geral, a icterícia é relativamente discreta e os níveis de aminotransferases não estão tão elevados quantos aqueles na necrose hepática, podendo ser microvesicular ou macrovesicular (ZIMMERMAN & MADDREY, 1993).

A lesão colestática nestes protocolos de exposição aguda lembram a icterícia obstrutiva extra-hepática tanto em suas manifestações clínicas como nos parâmetros bioquímicos. A icterícia é a principal manifestação. Os níveis de aminostransferases estão apenas levemente elevados em geral, menos de cinco vezes o limite normal e quase sempre menos de oito vezes este limite. De acordo com a hepatotoxina utilizada pode-se visualizar dois tipos de lesão colestática. A primeira acompanhada de inflamação portal embora a lesão do hepatócito seja discreta, denominada *colestase hepatocanicular, colangiolítica* ou *de sensibilidade*, a segunda acompanhada de pouca inflamação e até mesmo discreta lesão do hepatócito, intitulada *colestase canicular, branda* ou *do esteróide* (ZIMMERMAN & LEWIS, 1987).

Nos métodos de intoxicação crônica, as unidades experimentais, são mantidas sob tratamento por longos períodos (semanas), à substâncias químicas ou medicamentos administrados pelas vias pulmonar, intragástrica, intraperitoneal, subcutânea, em exposições diárias à respectiva hepatotoxina em dosagem padronizada durante o período. Nestes protocolos procura-se analisar geralmente o desenvolvimento de cirrose hepática e suas manifestações e consequências bioquímicas e histopatológicas.

De acordo com a administração de extratos vegetais ou de seus princípios isolados, na análise dos efeitos protetores sobre a morfologia e funcionalidade hepática, pode-se visualizar três momentos: (1) aqueles na qual o extrato ou seus princípios isolados são administrados previamente à indução da hepatotoxicidade química (pré-tratamento), procurando-se avaliar possíveis efeitos preventivos na lesão; (2) aqueles na qual o extrato é administrado após a indução da hepatotoxicidade (pós-tratamento), procurando-se avaliar os possíveis efeitos curativos na lesão, e, (3) aqueles na qual o extrato ou seus princípios isolados são administrados em uma combinação de pré e pós-tratamento na presença de uma hepatotoxina.

O α -naftil isotiocianato é uma toxina responsável por ações colestáticas quando de administração aguda, mimetizando a cirrose biliar primária. Esta substância química é capaz de diminuir o fluxo biliar em 50% após 24 horas de sua administração além da elevação de ácidos biliares totais na corrente sanguínea de animais intoxicados. Observa-se morfológicamente colangite e colangiólite esclerosante não supurativa e

destrutiva. As principais alterações se iniciam pelos colangiólos, que são transformados em nós ou faixas entrelaçadas de células isentas de luz, podendo ocorrer necrose do epitélio dos canais biliares. Infiltrado mononuclear nas regiões periportais representado por linfócitos, plasmócitos e macrófagos é observado. Os indicadores de lesão hepática utilizando esta substância se traduzem pela determinação dos níveis de ácidos biliares totais, bilirrubina total, direta e indireta séricas, a taxa de fluxo biliar, além da atividade das aminotransferases séricas. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos ou curativos de extratos vegetais sobre a hepatite aguda e a colestase induzida α -naftil isotiocianato (MATSUDA *et al.*, 1991; NOMURA *et al.*, 1995).

Doença hepática decorrente à presença de lipídeos peroxidados nos alimentos tem se constituído em um problema sério de saúde para o ser humano. Inúmeros óleos gordurosos fazem parte da dieta nutricional diária, porém estes quando em contato com o ar, podem originar facilmente lipídios peroxidados, propiciando o surgimento de lesões hepáticas, em indivíduos cuja dieta seja rica em ácidos graxos. Óleos vegetais freqüentemente contém ácido linoléico que origina peróxidos quando aquecido e/ou areado. Protocolos utilizando **ácido linoléico peroxidado** ou seus equivalentes, **peróxido de benzoíla**, **hidroperóxido cumênico**, **difosfato de adenosina férrica (ADP/Fe⁺⁺⁺)** e **ascorbato/Fe⁺²** procuram mimetizar a ação dos peróxidos lipídicos ingeridos na alimentação humana. Como marcador da lesão dos hepatócitos em suspensão em meio de cultura, determina-se a

atividade da enzima alanina aminotransferase. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos princípios ativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzida por agentes indutores de peroxidação lipídica (KISO *et al.*, 1985; KISO *et al.*, 1987).

A aflotoxina B₁ (AFB₁) é um metabólito do fungo *Aspergillus flavus*, se constituindo em uma hepatotoxina botânica, responsável por muitos efeitos tóxicos e carcinogênicos observados em laboratório e animais domésticos. Estudos epidemiológicos indicam que AFB₁ não metabolizada está associada a elevada incidência de câncer hepático primário no homem Africano e Asiático (ALPERT *et al.*, 1971). Pelo fato deste metabólito induzir uma série de efeitos tóxicos no corpo humano, entre eles o câncer hepático (mutação no códon 249 do gene supressor tumoral P₅₃) e hepatotoxicidade por inibição do RNA, com necrose na zona 3, colestase e esteatose microvesicular, a inativação pelo fígado de tal agente tem sido estudado em modelo animal, através da dosagem de enzimas envolvidas com os processos de detoxificação tais como aminopirina *N*-desmetilase, urudino difosfato glicuronil transferase, glutatião S-transferase, e as relacionadas com a morfologia e funcionalidade hepática, como fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase e gama-glutamilttransferase, além da determinação de conteúdo de DNA, formação de micronúcleos e concentração de proteínas. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo* e *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão

hepática produzida pelo metabólito da AFB₁ (MOUNDIPA & DOMNGANG, 1991; REEN *et al.*, 1997).

A *Amanita phalloides* (barrete da morte), é um vegetal que só nos Estados Unidos é responsável por 90% dos casos de intoxicação por cogumelos venenosos (HARRISON & PAASO, 1983), e de onde se extrai as hepatotoxinas faloidina e α -amanitina, sendo esta última uma das mais letais de todas as toxinas botânicas e biológicas (FLOERSHEIM, 1987). Tanto o extrato bruto de *Amanita phalloides* como suas frações (os peptídios cíclicos faloidina e α -amanitina) tem sido utilizados em modelos de hepatotoxicidade aguda. Estas substâncias inibem a síntese proteica hepática, produzindo também lesão com esteatose e necrose da zona 3, com grau relativo de degeneração gordurosa. O parâmetro utilizado nestes protocolos está baseado no índice de sobrevivência dos animais intoxicados. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de extratos vegetais ou seus princípios ativos isolados sobre a lesão hepática produzida por estas toxinas (FLOERSHEIM, 1987; HRUBY *et al.*, 1983; SOICKE & LENG-PESCHLOW, 1987; MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995).

O consumo crescente de **álcool etílico**, principalmente nos países do terceiro mundo tem se constituído em permanente problema social, econômico e de saúde para seus governos. No estudo de sua hepatotoxicidade, três respostas histológicas estão associadas: a esteatose alcoólica (fígado gorduroso alcoólico), hepatite alcoólica (esteatonecrose

alcoólica) e a cirrose alcoólica (DIEHL, 1989). O álcool etílico portanto se constitui para a pesquisa de substâncias hepatoprotetoras como uma singular toxina, visto poder-se com fidelidade analisar seus efeitos sobre fígado, transpondo os resultados destas investigações imediatamente para o ser humano, a exemplo do etinilestradiol e paracetamol.

O desenvolvimento do fígado gorduroso (esteatose) de natureza alcoólica é acompanhado por: 1) aumento da oferta de ácidos graxos; 2) diminuição da oxidação desses ácidos graxos; 3) aumento da taxa de esterificação de ácidos graxos para triglicérides e 4) diminuição da taxa de liberação dos triglicérides dos hepatócitos para o plasma, podendo ser reproduzida em animais de laboratório. O oxidação do etanol em acetaldeído alteraria o potencial redox da célula, acarretando redução na taxa de oxidação dos ácidos graxos. A esteatose alcoólica caracteriza-se histologicamente pela existências de esteatose macrovesicular, embora seja comum certa mistura com esteatose microvesicular. A distribuição característica da gordura é zonal, geralmente a zona 3 (centrolobular) dos ácinos (DIEHL, 1989; LIEBER, 1995).

Outra manifestação desta toxina é a hepatite alcoólica (esteatonecrose alcoólica), que é a segunda principal lesão histopatológica atribuída ao álcool (DIEHL, 1989). Seus mecanismos de instalação permanecem obscuros. Evidências apontam para a relação hipóxia/reoxigenação tecidual. Trabalhos demonstraram que o tratamento crônico com etanol aumenta o consumo de oxigênio pelo fígado (BERNSTEIN

et al, 1973) e que o aumento da respiração tecidual causado pelo tratamento crônico deste, acentua as diferenças de gradiente intralobular de oxigênio (JI et al, 1982). Tal evento pode ser induzido experimentalmente com o etanol em animais de laboratório, onde pode se observar um rápido aumento na respiração celular hepática e no metabolismo do etanol (SIAM) (YUKI & THURMAN, 1980).

O aumento no consumo de O_2 causado pelo estado hipermetabólico acarretaria hipóxia centrolobular (zona 3) conduzindo a injúria hepática pericentral. Evidências de tais achados está documentado através de estudos realizados em ratos onde o tratamento agudo com etanol foi capaz de causar hipóxia pericentral (IIMURO *et al.*, 1996). O dano celular ativaria as células de Kupffer a lançar potentes mediadores, como citocinas e eicosanóides. Recentemente se evidenciou que a inativação das células de Kupffer pelo cloreto de gadolinium ($GdCl_3$) prevenia o SIAM. Além disso, quando as células de Kuffer eram inativadas com $GdCl_3$ no modelo de Tsukamoto-French, a elevação da utilização de O_2 e a eliminação do etanol eram minimizados e a lesão hepática induzida inibida totalmente (BRADFORD *et al.*, 1993). O tratamento crônico com esta toxina pode também elevar a produção de prostaglandinas E_2 pelas células de Kupffer. Evidências da participação deste eicosanóide nas hepatopatias, foi demonstrado recentemente, onde observou-se aumento no consumo de oxigênio induzido por este autacóide em células isoladas de parênquima hepático de ratos (QU *et al.*, 1996). Portanto as células de Kupffer participam

provavelmente do metabolismo do álcool nos hepatócitos e da injúria álcool-induzida pelo aumento da extração de oxigênio do tecido, contribuindo assim na desregulação do gradiente hipóxia/reoxigenação nas regiões pericentrais dos lóbulos. Tres alterações histopatológicas podem ser analisadas em protocolos experimentais: (1) acúmulo hepatocelular de gordura; (2) corpos de Mallory, (3) inflamação aguda; e/ou fibrose pericelular e perivenular da zona 3 (FRENCH, 1981).

A cirrose é o terceiro principal padrão histológico de lesão hepática atribuído ao álcool podendo ser observado em protocolos crônicos de intoxicação pelo etanol. Este agente é capaz de alterar a microcirculação normal, a anatomia vascular macroscópica e a arquitetura através da destruição em graus variados dos hepatócitos, acompanhados da presença de septos fibrosos rodeando nódulos parenquimatosos regenerados ou em processo de regeneração. As chaves anatômicas para este processo residem na inflamação, necrose parenquimatosa, regeneração nodular e a formação de novo tecido conjuntivo. Alguns pesquisadores demonstraram que o acetaldeído estimularia, diretamente, a síntese de colágeno em miofibroblastos hepáticos isolados de ratos justificando as características fibróticas da cirrose alcoólica (MINATO *et al.*, 1983; MAK *et al.*, 1984).

A cirrose alcoólica induzida artificialmente em animais de laboratório é do tipo microvesicular (DIEHL, 1989).

O álcool afeta inúmeros parâmetros bioquímicos e enzimáticos. Os efeitos mais exuberantes deste agente, podem ser sentidos no declínio da

atividade da acetaldéido desidrogenase, superóxido dismutase, catalase, peroxidase e glutatião-S-transferase. Protocolos utilizando o etanol como hepatotóxina procuram analisar a atividade de enzimas relacionadas com o metabolismo deste agente (álcool desidrogenase, acetaldéido desidrogenase), enzimas antioxidantes (superóxido dismutase, catalase, peroxidase, glutatião-S-transferase), enzimas do parênquima hepático (γ -glutamil transferase, 5' nucleotidase, succinato desidrogenase, ribonuclease ácida, fosfatase ácida, glicose-6-fosfatase), constituintes químicos (peróxidos lipídicos, bilirrubina, glutatião reduzido, glicogênio) e parâmetro bioquímicos séricos (álcool desidrogenase, γ -glutamil transferase, fosfatase alcalina, aminotransferases e seus constituintes químicos, bilirrubina, triglicérides, proteínas totais e albumina). Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda ou crônica, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais ou seus princípios ativos em lesões hepáticas agudas ou crônicas (cirrose) produzidas pelo etanol (VALENZUELA *et al.*, 1985; CONTI *et al.*, 1991; CHAUHAN *et al.*, 1994; WANG *et al.*, 1996, RASTOGI *et al.*, 1996; IIMURO *et al.*, 1996).

Os **derivados tricíclicos, imipramina e nortriptilina**, têm sido utilizados a vários anos para tratar pacientes com depressão. Em geral, estes associam-se a uma pequena incidência de alterações hepáticas, com um padrão de lesão que lembra os derivados fenotiazínicos. Ignora-se o verdadeiro mecanismo da lesão hepática induzida por estas toxinas, mas defendem-se a distorção dos canálculos biliares interlobulares provocadas

por uma reação antígeno-anticorpo, edema hepatocelular, espasmo do esfíncter de Oddi, resultando em colestase ou uma combinação de hepatotoxicidade e hipersensibilidade. Outros mecanismos aventados para estes agentes seriam a toxicidade direta das drogas ou de seus metabólitos sobre as membranas dos hepatócitos alterando suas propriedades físicas de semipermeabilidade. As teorias mais recentes sobre a hepatotoxicidade dos antidepressivos tricíclicos incluem uma base genética. Estes agentes e compostos correlatos associam-se a discretas elevações das enzimas hepáticas, com quadros bioquímicos e histológicos compatíveis com colestase e, por vezes necrose celular.

A imipramina e nortriptilina tem sido utilizadas em modelos para a análise do efeito hepatoprotetor de extratos vegetais ou seus princípios ativos isolados. Em análises histopatológicas os parâmetros passíveis de serem estudados são o grau de vacuolização, deformação celular, dificuldade de diferenciação de estruturas intracelulares e necrose celular. A nível enzimático, procura-se analisar a liberação de enzimas intracelulares decorrente da lesão de membrana como a lactato desidrogenase e aminotransferases, geralmente com atividade elevada, além da determinação de proteínas totais. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo* e *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de extratos vegetais ou seus princípios ativos em lesões hepáticas agudas induzidas por estes compostos tricíclicos (MITCHELL & ACOSTA, 1981; DAVILA *et al.*, 1989; HOLT *et al.*, 1995; WANG *et al.*, 1996).

A **D-galactosamina** é outra hepatotoxina extensamente utilizada em experimentação científica porque induz à lesão do fígado com um quadro bioquímico e histopatológico semelhante a hepatite de fundo viral, hepatite alcoólica e medicamentosa (HASE *et al.*, 1996). Esta toxina induz a formação de uridino-difosfatogalactosamina utilizando como substrato o uridino fosfato das células hepáticas, que culmina na depleção de vários nucleotídeos uracílicos, como uridino-monofosfato, uridino-trifosfato, uridino-galactose e uridino-difosfatoglicose. Atividade do RNA_m se mostra prejudicada, como também a síntese de glicoproteínas. Acentuadas alterações na composição das membranas citoplasmáticas são observadas com esta hepatotoxina, como o extravasamento de enzimas intracelulares. A intensa galactosaminação das estruturas membranares é responsável pela deterioração da bomba de cálcio, conduzindo a um rompimento da homeostase iônica, com acúmulo intracelular deste íon nos hepatócitos podendo resultar em danos irreversíveis a esta entidade. Necrose focal na área periportal, inflamação periportal com infiltrado de células polimorfonucleares, linfocitárias e eosinofílicas e degeneração microvesicular são observados neste protocolo. É frequente observar-se ativação de células de Kupffer nas áreas portais. Os parâmetros analisados nestes protocolos são, determinação da atividade das aminotransferases, fosfatase alcalina, análises histopatológicas, teste de viabilidade dos hepatócitos utilizando azul de Trypan e consumo de oxigênio em hepatócitos isolados de ratos. Em ensaios biológicos a indução da intoxicação é aguda, *in vivo* e *ex vivo*,

procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzida pela D-galactosamina (ABE *et al.*, 1980; HIKINO *et al.*, 1985; TAMAI *et al.*, 1989; HOUGHTON & HIKINO, 1989; WONG *et al.*, 1989; MATSUDA *et al.*, 1991; HOFFMANN-BOHM *et al.*, 1992; DWIVEDI *et al.*, 1993; NOSE *et al.*, 1994; YEN *et al.*, 1994; VISEN *et al.*, 1995; SARASWAT *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 1996a; LIN *et al.*, 1996b; LIN & SHIEB, 1996b; LIN *et al.*, 1996c; LIN *et al.*, 1996d; LIN *et al.*, 1996e; HASE *et al.*, 1996).

A **eritromicina** é um antibiótico macrolídeo bacteriostático produzido por espécies de *Streptomyces* se caracterizando pela presença em sua estrutura química de uma lactona macrocíclica, daí o nome macrólido. É empregada em protocolos de hepatotoxicidade na forma de éster (estolato de eritromicina). Esta é biotransformada no fígado pelo sistema citocromo P450 III A 4 a um derivado reativo intermediário quimicamente derivado do grupo dos nitrosoalcanos, que posteriormente é convertido em radicais reativos nitrosos livres. A formação final de tais radicais é responsável pela degradação dos fosfolípídeos hepáticos. Estes reativos causam congestão dos vasos portais, dilatação dos vasos sanguíneos, infiltração difusa de células inflamatórias na zona II e dilatação dos sinusóides quando o estolato de eritromicina é administrada em doses elevadas. Como marcadores da lesão hepática neste protocolo utilizam-se as determinações de atividade das aminotransferases e fosfatase alcalina, além das concentrações séricas de bilirrubina, colesterol, triglicérides, fosfolípídios e ácidos graxos livres. Em

ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo* e *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzida pelo metabólito do estolato de eritromicina (DAVILA *et al.*, 1989; VENKATESWARAN *et al.*, 1997).

O **etinilestradiol** pertence ao grupo terapêutico dos agentes anticoncepcionais orais. Alterações leves, não progressivas e reversíveis das provas de função hepática entre mulheres usuárias, chamaram a atenção de pesquisadores sobre o potencial hepatotóxico destes fármacos, sendo que, nos primeiros estudos praticamente todos os anticoncepcionais orais causavam deficiência subclínica do transporte da sulfobromoftaleína. Em contraste com esta alteração sutil na sulfobromoftaleína, algumas pacientes desenvolviam icterícia colestática franca durante o seu uso dentro de 6 meses do início do tratamento (ZIMMERMAN & LEWIS, 1987; BASS & OCKNER, 1990). O etinilestradiol é uma hepatotoxina utilizada em pesquisa de plantas medicinais, capaz de experimentalmente induzir a colestase intra-hepática aguda do tipo canicular, branda ou esteróide, cujos achados concorrem com pouca inflamação e lesão do hepatócito (ZIMMERMAN & LEWIS, 1987), porém com acentuada diminuição do fluxo biliar e de seus constituintes tais como sais biliares, ácidos biliares, ácido cólico e ácido deoxicólico (SHUKLA *et al.*, 1991). O mecanismo envolvido na lesão colestática produzido por esta toxina seria decorrente de uma alteração na membrana basolateral do hepatócito, que determinaria a diminuição da fluidez e da atividade das $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$. Estas modificações prejudicariam

a captação de ácidos biliares pelo hepatócito e, como consequência, diminuiriam o fluxo biliar (LAHOTI & LEE, 1995; ZIMMERMAN & LEWIS, 1987). A exposição crônica ao etinilestradiol pode produzir colestase intra-hepática, semelhante à cirrose biliar primária (ZIMMERMAN & ISHACK, 1995). Quando presente associada à colestase, a lesão produzida por esta toxina pode lembrar a icterícia obstrutiva extra-hepática, como a encontrada na oclusão das veias hepáticas na Síndrome de Budd-Chiari, caracterizada por hepatomegalia, ascite, elevação moderada dos níveis de aminotransferases e, raramente com icterícia e na doença veno-oclusiva, evidenciada por lesão necrótica central acompanhada de redução progressiva do diâmetro venular em suas manifestações clínicas e nos parâmetros bioquímicos (LAHOTI & LEE, 1995).

Os indicadores de lesão hepática utilizando esta droga, se traduzem pelo estudo do fluxo biliar em animais com canulação do ducto biliar e análises bioquímicas do conteúdo biliar coletado (ácidos biliares, sais biliares, ácido cólico e ácido deoxicólico). Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda e crônica, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de extratos vegetais sobre a colestase induzida pelo etinilestradiol (SHUKLA *et al.*, 1991; MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995).

Muitos estudos tem sido conduzidos no sentido de elucidar os mecanismos de secreção biliar, e sua correlação com a colestase intrahepática, observada em várias doenças do fígado. Dentre estes, o da colestase intrahepática induzido por uma **linfocina** conhecida como **fator**

colestático, se constitui em modelo dos mais elegantes. O fator colestático tem sido responsabilizado pela colestase intrahepática observada na hepatite alcoólica, hepatite autoimune e hepatite viral. Este fator é obtido a partir das células de linfonodos tuberculino-sensibilizados de porcos da Índia, estimulados por derivados proteicos purificados (adjuvante completo de Freund). Os parâmetros analisados são o fluxo biliar e a excreção de ácidos biliares pela canulação do ducto biliar. Quando a linfocina ou o fator colestático, é administrado intravenosamente em ratos pela veia mesentérica, uma acentuada redução do fluxo biliar é observada, em decorrência da supressão da formação de bile nos canalículos. Este fator pode suprimir também a formação da bile ácido-dependente e independente a nível de canalículos biliares. À microscopia eletrônica pode-se analisar a dilatação dos canalículos biliares com diminuição das microvilosidades. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo*, procurando-se verificar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre o fluxo biliar e seus constituintes produzido pelo fator colestático (MIZOGUCHI *et al.*, 1992).

A fração macromolecular proteica trinitrofenilada (TNP-LP₁)

é um derivado sensibilizante utilizado em protocolos que visam estudar a injúria hepática do ponto de vista imunológico. Nestes modelos, as unidades experimentais são sensibilizadas com TNP-LP₁ obtida a partir do trinitrobenzeno de sódio, um hapteno imunogenicamente enérgico associado a uma proteína carreadora (fração macromolecular proteica - LP₁). A administração de hepatócitos trinifenilados e lipopolissacarídeos em animais

previamente sensibilizados (após 2 semanas) pela veia mesentérica resulta na falência hepática decorrente de maciça necrose do parênquima deste órgão. Utilizando-se este modelo experimental, analisa-se o efeito de uma determinada substância na prevenção da falência hepática aguda de fundo imunológico. A injúria hepática neste modelo pode ser justificado pela capacidade do hapteno-carreador estimular os macrófagos a liberarem interleucina-1 e os linfócitos interleucina-2 e γ -interferon. Estes mediadores uma vez disponíveis, induzem a injúria das células hepáticas pela ativação células citotóxicas T, células de Kupffer, células endoteliais e hepatócitos nas células alvos, sendo o lipopolissacarídeo potencializador desta ativação. Como marcadores deste estudo, utilizam-se as determinações enzimáticas de aminotransferases, análises histopatológicas assim como a taxa de sobrevivência dos animais tratados. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzido pela fração macromolecular proteica trinitrofenilada (MIZOGUCHI *et al.*, 1991).

Protocolo utilizando dieta rica em **óleo de milho peroxidado** para a análise do efeito hepatoprotetor de princípios ativos de isolados plantas, pode ser conduzido através da administração crônica por via oral (5 semanas) em animais de laboratório. Óleos peroxidados são capazes de induzir injúria hepática acompanhado de lipemia, em virtude de induzirem a síntese de peróxidos lipídicos que atuam sobre membranas fosfolipídicas dos hepatócitos, alterando sua morfologia e funcionalidade. Como marcadores da

disfunção hepática, determina-se as concentrações séricas das aminotransferases, colesterol total, triglicérides e ácidos graxos livres. Este protocolo permite analisar quimicamente *in vitro* o efeito do princípio ativo sobre o curso da peroxidação do óleo de milho, obtido pelo aquecimento a 180°C por 30 min na presença de oxigênio borbulhante, avaliando-se a quantidade de lipoperóxidos formados em nmoles.mL^{-1} . Em ensaios biológicos a intoxicação é crônica, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de princípios ativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática e a lipemia produzida pelo peroxidação lipídica dos hepatócitos induzida pela dieta contendo altas concentrações de óleo de milho peroxidado (OHMINAMI *et al.*, 1984).

O **paracetamol** é um analgésico e antipirético, destituído de atividade antiinflamatória largamente utilizado na prática clínica. BOYD & BERECZKY (1966) foram os primeiros a chamarem a atenção para o efeito hepatóxico do paracetamol ao relatarem necrose no fígado de ratos expostos a altas doses dessa droga. Doses elevadas, maiores que 10 a 15 gramas para o homem e 640 mg por kg de peso corporal para o rato, levam ao desenvolvimento de necrose hepática, que se inicia dentro das primeiras 24 horas da intoxicação e se localiza, caracteristicamente, na região centrolobular com congestão sinusoidal na zona 3. A ação dos citocromos P450 I A 2 e P450 II E 1 produz dois tipos principais de metabólitos tóxicos: os eletrofílicos e os radicais livres. O metabólito eletrofílico (*N*-acetil-*p*-benzoquinona imina) liga-se a sítios nucleofílicos celulares representados,

principalmente, pelo grupo tiol da cisteína. Nas células a maior parte do tiol existe como glutatião ou como constituinte de proteínas. O glutatião no fígado funciona como substância protetora endógena por ligar-se a compostos tóxicos. Enzimas como a glutatião S-transferase, desempenha importante papel na detoxificação deste composto eletrofílico. Na presença desta enzima, metabólitos eletrofílicos do paracetamol interagem preferencialmente com o grupo tiol do glutatião. Somente após o glutatião ter sido consumido é que o intermediário reativo passa a ligar-se covalentemente aos grupos sulfidrilas da cisteína de proteínas celulares, particularmente daquelas ricas em tióis livres, como as encontradas nos hepatócitos. Assim apenas quando a concentração de glutatião hepático é suficientemente baixa, é que o metabólito do paracetamol tem oportunidade de revelar sua toxicidade. Desarranjo na homeostase do cálcio celular é o principal evento na lesão induzida pelo paracetamol, com acúmulo deste íon associado a ativação de fosfolipases e proteases celulares, assim como alterações no citoesqueleto, que contribuem para a morte celular, associados a inibição da biossíntese de glutatião. Em protocolos utilizando extratos com atividade hepatoprotetora, adota-se marcadores como as aminotransferases, investigações histopatológicas, determinação das concentrações de glutatião hepático e malonaldeído. Em ensaios biológicos a indução da intoxicação é aguda, *in vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzido pelo paracetamol (SHUKLA *et al.*, 1991; CAMPOS *et al.*, 1989; SHUKLA *et al.*, 1992; SHARMA *et al.*, 1993;

GADGOLI & MISHRA, 1995; GILANI & JANBAZ, 1995a; GILANI & JANBAZ, 1995b; LIN *et al.*, 1996d; NADEEM *et al.*, 1997).

O **porone (diisopropilideno acetona)**, é um composto químico que induz a peroxidação lipídica e a depleção do glutatião hepático em ratos fenobarbital-induzidos. Sabe-se que muitos sistemas endógenos são responsáveis pela remoção de peróxidos de hidrogênio formados a partir da peroxidação de ácidos graxos insaturados, estes últimos responsáveis pelo ataque oxidativo sobre as membranas fosfolipídicas dos hepatócitos induzindo a lesão tecidual. Dentre os agentes endógenos que respondem pela proteção tecidual destacam-se o glutatião e as glutatião peroxidases. Dentre os parâmetros analisados, tem-se a produção de malondialdeído decorrente da peroxidação lipídica, além da determinação da concentração de glutatião nos hepatócitos. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de princípios ativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzida pelo porone em cultura de hepatócitos (YOUNES & SIEGERS, 1981).

tert-butilhidroperóxido é um hidroperóxido orgânico, que produz peroxidação lipídica, distúrbios da homeostase do Ca^{++} intracelular, liberação de lactato desidrogenase, marcante vesiculação da membrana citoplasmática com distúrbios nas reservas de glutatião hepático. A depleção de glutatião e a oxidação de NADPH são atribuídos à distúrbios na homeostase do cálcio intracelular, e a vesiculação da membrana citoplasmática, precocemente indica o efeito lesivo do *tert*-butilhidroperóxido

sobre as células. Esta toxina apresenta sua ação primária, após ser biotransformada pelo citocromo P450 hepático em radicais livres, que iniciam a peroxidação lipídica, associado à injúria celular pela decomposição da membrana lipídica através da ligação covalente dos metabólitos com macromoléculas proteicas. Em análises histopatológicas os parâmetros passíveis de serem estudados são o grau de vacuolização, deformação celular, dificuldade de diferenciação de estruturas intracelulares e necrose celular. A nível enzimático, investiga-se a liberação de enzimas intracelulares decorrente da lesão de membrana como a lactato desidrogenase e aminotransferases, além da determinação de proteínas totais. Em ensaios biológicos a intoxicação é aguda, *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos de extratos vegetais ou seus princípios ativos em lesões induzidas em culturas de hepatócitos pelo *tert*-butilhidroperóxido (DAVILA *et al.*, 1989; RUSH *et al.*, 1986).

O **tetracloroeto de carbono**, que é uma hepatotoxina clássica, foi descrito inicialmente quando o mesmo era utilizado como vermífugo na primeira parte deste século (ZIMMERMAN & LEWIS, 1995), sendo ainda comercializado em alguns países como reagente caseiro para a limpeza a seco e como componente nos extintores de incêndio (RUPRAH *et al.*, 1985).

Esta toxina tem sido extensamente utilizada como indutor artificial de hepatopatia em protocolos padronizados que procuram investigar os efeitos benéficos de extratos vegetais ou seus princípios ativos isolados sobre a morfofuncionalidade do fígado (SPEEG & BAY, 1995), visto poder

mimetizar em muitos aspectos bioquímicos e histopatológicos a hepatite fibrótica e cirrótica, a intoxicação aguda alcoólica, a hepatite aguda, as desordens do trato biliar e a hepatite viral (NIEBES & PONARD, 1975).

A toxicidade do CCl_4 é mediada pelas enzimas oxidativas de Fase I, presentes nos retículos endoplasmáticos dos hepatócitos, denominadas citocromo P 450 2 E 1 (RECKNAGEL *et al.*, 1989; WATKINS, 1992) que induzem a formação de radicais livres altamente reativos e tóxicos, o triclorometil (CCl_3^*) e seu radical peroxi derivado (CCl_3OO^*) (CASARETT & DOULL, 1986; KAPLAN, 1993).

A lesão hepática produzida pelo metabólito CCl_3^* e seu radical peroxi derivado (CCl_3OO^*) é um exemplo clássico de necrose da zona 3, decorrente da alta concentração desta enzima a nível de retículos endoplasmáticos dos hepatócitos daquela região (SLATER, 1966; RECKNAGEL & GLENDE, 1973; KAPLAN, 1993).

O radical livre CCl_3^* seu radical peroxi derivado (CCl_3OO^*) se ligam covalentemente em alvos críticos das células hepáticas (membranas celulares) produzindo peroxidação lipídica, desintegrando o citoesqueleto, alterando a morfofuncionalidade mitocondrial, modificando a homeostasia iônica intracelular com ativação de enzimas catabólicas (DeLEVE & KAPLOWITZ, 1975; RECKNAGEL *et al.*, 1989; KAPLAN, 1993).

As alterações no citoesqueleto afetam diretamente a integridade da membrana citoplasmática, determinando a formação de vesículas, o que modifica a forma dos hepatócitos, desconfigurando sua arquitetura podendo

levar a morte da estrutura envolvida (HOOSER, 1990). Sabe-se que os filamentos do citoesqueleto servem de âncoras para conectar a membrana citoplasmática com o interior da célula. A ativação de proteases pelo aumento do cálcio citossólico causa dano ao citoesqueleto. Na presença de intumescimento celular, este processo induziria ao descolamento da membrana celular, tornando esta susceptível ao estiramento e rompimento (KAPLAN, 1993; COTRAN *et al.*, 1996).

Outra ação intermediada pelo radical livre CCl_3^* e seu peroxi derivado seria a disfunção mitocondrial, onde a peroxidação lipídica de suas membranas internas induziria à perda de seu potencial elétrico com declínio da fosforilação oxidante, em função do aumento da captação mitocondrial de Ca^{++} (VAN DER VUSSE & RENEMAN, 1985), interrompendo a síntese de ATP além de esfoliá-lo da célula em sofrimento. A inibição da síntese e depleção de nucleotídeos pirimidínicos mitocondriais alteraria inúmeras atividades biológicas dos hepatócitos, pois estes são de fundamental importância para os processos anabólicos e catabólicos, de transportes transmembranares, síntese de proteínas, lipogênese e reações de desacilação-reacilação necessárias à renovação de fosfolípidos (DeLEVE & KAPLOWITZ, 1975). A perda da integridade mitocondrial das membranas internas, acarreta o aumento da permeabilidade à solutos e compostos de baixo peso molecular. Este aumento brusco da permeabilidade destas estruturas é conhecido tecnicamente como transição da permeabilidade da membrana mitocondrial (MMPT), gerando perda dos gradientes iônicos e à disfunção grave da

mitocôndria que culmina em necrose da célula em questão. Não é muito claro, mas esta alteração parece ser decorrente da lesão inespecífica da membrana interna mitocondrial ou de mecanismos que abrem um mega-canal (FERNÁNDEZ-CHECA, 1993).

A perda da homeostasia iônica é sempre uma manifestação precoce de citotoxicidade, sendo que os aumentos do cálcio citoplasmático e a morte celular já estão bem determinados utilizando o CCl_4 (DeLEVE & KAPLOWITZ, 1975; KAPLAN, 1993).

O cálcio citosólico livre é mantido em concentrações extremamente baixas (menos de $0,1 \mu\text{M}$) em comparação aos níveis extracelulares de $1,3 \mu\text{M}$, e a maior parte do cálcio intracelular é sequestrada pelas mitocôndrias e retículo endoplasmático. Tais gradientes são modulados por Ca^{++} dependente de energia e Mg^{++} -ATPases associados à membrana. O radical livre CCl_3^{\bullet} causa um aumento precoce da concentração citossólica de cálcio, devido ao influxo de Ca^{++} através das membranas citoplasmáticas e liberação de Ca^{++} pela mitocôndria e retículo endoplasmático. Aumentos mantidos no Ca^{++} da célula resultam, subseqüentemente de aumentos inespecíficos da permeabilidade da membrana (MMPT) (KAPLAN, 1993; COTRAN *et al.*, 1996).

O aumento do Ca^{++} , por sua vez, ativa várias enzimas, com efeitos celulares potencialmente deletérios. Entre as enzimas conhecidas como ativadas pelo Ca^{++} , incluem as *fosfolipases* (promovendo dano a membrana, liberando ácido aracdônico), as *proteases* (com a decomposição

tanto das proteínas da membrana quanto ao citoesqueleto), ATPases (apresentando depleção de ATP) e *endonucleases* (associadas a fragmentação da cromatina) (TSOKOS-KUHN, 1989).

Os resultados que concorrem para as alterações necróticas observadas pela ação do CCl₄, de acordo com a descrição da literatura são: (1) digestão enzimática da célula por enzimas catalíticas derivadas dos lisossomos das células mortas (autólise) e dos lisossomos de leucócitos imigrantes (heterólise) e (2) desnaturação de proteínas (KAPLAN, 1993; STEVENS & LOWE, 1996).

A tumefação turva dos hepatócitos, geralmente é a primeira manifestação de lesão às células hepáticas (COTRAN *et al.*, 1996). Dentre os aspectos ultra-estruturais que colaboram para este processo, pode-se citar: (1) alterações de membrana citoplasmática, tais como bolhas, projeção e distorção de microvilosidades, criação de figuras mielínicas e afrouxamento das ligações intercelulares; (2) alterações mitocondriais, incluindo tumefação, rarefação e surgimento de pequenas densidades amorfas ricas em fosfolipídeos; (3) dilatação do retículo endoplasmático com descolamento e desagregação de polissomos e (4) alterações nucleolares, com desagregação de elementos granulares e fibrilares (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996).

A depleção de ATP é primariamente responsável por tal evento (STEVENS & LOWE, 1996), sendo que esta produz um distúrbio da

regulação do volume celular pela membrana citoplasmática. A falta de energia devido à diminuição da concentração de ATP e aumento da atividade das ATPases, faz com que o sódio se acumule intracelularmente por redução da atividade da bomba Na^+K^+ ATPase, juntamente com o Cl^- , concorrendo com este fenômeno a difusão de potássio para o meio extracelular. O ganho osmótico de água, crescimento celular e dilatação do retículo endoplasmático eleva a pressão colóidial osmótica do hepatócito (KAPLAN, 1993; COTRAN *et al.*, 1996).

O CCl_4 é capaz também, de induzir ao fenômeno de esteatose microvesicular, na forma de pequenos vacúolos claros dentro das células parenquimatosas decorrente do acúmulo de lipídios. Este fenômeno é sinal característico das formas agudas de intoxicação hepática (ZIMMERMAN & LEWIS, 1995), que decorre em função da intensa peroxidação lipídica e de todos os eventos subsequentes induzidos pelo radical livre CCl_3^* e seu peroxiderivado. Observa-se uma diminuição da síntese proteica nos hepatócitos, visto que os retículos endoplasmáticos ao sofrerem a ação catalítica de peróxidos orgânicos formados neste processo patológico perderiam a competência funcional de síntese. O acúmulo de lipídeos bioquimicamente seria justificado pela incapacidade da célula hepática em sintetizar lipoproteínas a partir de triglicerídios e "proteínas aceptoras de lipídios" originando a metamorfose gordurosa (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996).

Em análises histopatológicas procura-se investigar a interferência de extratos vegetais ou seus princípios ativos sobre a progressão da esteatose, infiltrado inflamatório de linfócitos e células de Kupffer, necrose celular e tumefação turva dos hepatócitos produzido pelo CCl₄. Como marcadores bioquímicos da lesão hepática, determina-se a atividade das aminotranferases séricas, desidrogenase láctica, fosfatase alcalina, glutatião redutase, glutatião peroxidase, glutatião-S-transferase, glicose-6-fosfato desidrogenase, catalase, succinato desidrogenase, citocromoxidase, trifosfato de adenosina magnésio dependente, γ -glutamylcisteína sintetase, sorbitol desidrogenase, atividade de enzimas metabolizadoras de drogas (citocromo P 450, citocromo b₅ e hidroxilase hidrocarbônica) concentrações teciduais de glutatião hepático, concentração sérica de bilirrubina, glicogênio, proteínas, fosfolipídeos, triglicérides (hepático e sérico), albumina, ácidos graxos livres, colesterol total e frações (VLDL, LDL, HDL), atividade citoprotetora sobre hepatócitos isolados de ratos, concentração hepática de malonaldeído (peroxidação lipídica), taxa de fluxo biliar e de ácidos biliares, clearance de [¹⁴C]-Eritritiol, retenção de bromossulfaleína, tempo de sono induzido por barbitúricos em animais intoxicados pelo CCl₄. Em ensaios biológicos a indução da intoxicação é aguda ou crônica, *in vivo* e *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais ou seus princípios isolados sobre lesões hepáticas produzidas pelo CCl₄ (KISO *et al.*, 1985; HIKINO *et al.*, 1985; HIKINO *et al.*, 1986; WAGNER *et al.*, 1986; KISO *et al.*, 1987; WONG

et al., 1989; JAYATHILAKA *et al.*, 1989; LEXA *et al.*, 1989; MATSUDA *et al.*, 1991; SARAF *et al.*, 1992; SHARMA *et al.*, 1991a; SHARMA *et al.*, 1991b; MANDAL *et al.*, 1992; HOFFMANN-BOHM *et al.*, 1992; ANAND *et al.*, 1992a; ANAND *et al.*, 1992b; BISHAYEE & CHATTERJEE, 1993; RAO *et al.*, 1993; NOSE *et al.*, 1994; DE *et al.*, 1994; RUSU *et al.*, 1994; OKONKWO & MSONTHI, 1995; LEE *et al.*, 1995; IP *et al.*, 1995; KO *et al.*, 1995; KAPIL *et al.*, 1995; MAGALHÃES *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 1996; HASE *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996a; LIN *et al.*, 1996b; LIN *et al.*, 1996c; LIN *et al.*, 1996e; DE *et al.*, 1996; SUNG *et al.*, 1997).

A **tioacetamida** é uma toxina que interfere no metabolismo respiratório das células do fígado devido ao influxo descontrolado de íons Ca^{++} que promove, acompanhada da inibição da fosforilação oxidativa dos hepatócitos. As conseqüências metabólicas de tal interferência se refletem em aumentos consideráveis de ácido desoxiribonucléico, ribonucleíco e conteúdo de proteínas na fração nuclear do hepatócito. Esta toxina produz ainda a inibição de enzimas de membrana plasmáticas dos hepatócitos (Na^{+} - K^{+} ATPase, Ca^{++} -ATPase, Mg^{++} -ATPase) e aumento da atividade de outras (fosfatase alcalina, γ -glutamil transferase). A nível mitocondrial (succinato desidrogenase) e lisossomal (ribonuclease ácida) observa-se uma diminuição na primeira com incremento da segunda. A atividade enzimática microsomal (glicose-6-fosfatase) apresenta-se diminuída assim como a função do complexo citocromo P 450. O glicogênio hepático é reduzido. A tioacetamida

causa um significativo aumento na atividade aminotransferases e concentrações de bilirrubina séricas. Vários graus de dano hepático podem ser induzidos pela tioacetamida, tais como cirrose nodular, proliferação celular hepática, produção de pseudolóbulos e necrose das células do parênquima dos hepatócitos.

Para esta toxina, os marcadores para a extensão das lesões são: atividade das enzimas de membrana (fosfatase alcalina, γ -glutamil transferase, Na^+ - K^+ ATPase, Ca^{++} -ATPase, Mg^{++} -ATPase), mitocôndias (succinato desidrogenase, aspartato aminotransferase), lisossomal (ribonuclease ácida e fosfatase ácida), microssomal (glicose-6-fosfatase) e citoplasmática (aminotransferases) além das constituição (em mg.g^{-1} de fígado) de ácido desoxirribonucléico e ribonucleíco, glicogênio e proteínas. Em ensaios biológicos a indução da intoxicação pode ser aguda ou crônica, *in vivo* e *ex vivo*, procurando-se analisar os efeitos preventivos e curativos de extratos vegetais sobre a lesão hepática produzido pela tioacetamida (DWIVEDI *et al.*, 1991; SARAF *et al.*, 1992; DWIVEDI *et al.*, 1993; MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995).

4.6. CORRELAÇÃO ENTRE A PESQUISA BIOLÓGICA *IN VIVO* E *EX VIVO* COM ENSAIOS CLÍNICOS EM HUMANOS

Extratos de plantas ou seus princípios ativos tem sido utilizados tradicionalmente na prática médica para o tratamento das desordens hepáticas ao longo dos séculos. Associado à pesquisa de protocolos de hepatotoxicidade em animais de laboratório, a confirmação dos resultados em estudos clínicos é de fundamental importância para validar os testes *in vivo* ou *ex vivo* até o presente momento aplicados como modelos de investigação de substâncias hepatoprotetoras. A doença hepática, incluindo hepatite viral aguda, hepatite viral crônica, colicistite crônica, doença hepática alcoólica e envenenamento por cogumelo, têm se constituído em alvos de estudos clínicos utilizando inúmeros extratos vegetais ou seus princípios ativos, que também foram testados em modelos biológicos de hepatotoxicidade.

A **(+)-Catequina** é um flavonóide hepatoprotetor isolado da planta *Uncaria gambir* Roxburg (*Rubiaceae*) e certamente de outras plantas, sendo conhecida comercialmente por (+)-cyanidanol-3 ou cianidanol (THABREW & HUGHES, 1996). Experimentos controlados sobre os efeitos da (+)-catequina na hepatite viral tem sido conduzido em inúmeros centros universitários da Europa. Um estudo duplo-cego foi conduzido por SEYFRIED *et al.* (1975), em pacientes portadores de hepatite de diversas etiologias virais, os valores de aminotransferases plasmática e bilirrubina caíram acentuadamente no grupo tratado com (+)-catequina quando comparado ao grupo tratado com placebo (THABREW & HUGHES, 1996). BERENGO & EPOSITO (1975) (THABREW & HUGHES, 1996) em um amplo estudo também ratificaram a resolução do níveis de bilirrubina assim como o trabalho de BOREL *et al.*, na Suíça (1976)

em um grupo restrito de pacientes com hepatite aguda. Um estudo multicêntrico conduzido na Suíça, Alemanha e Dinamarca por BLUM *et al.* (1977) no tratamento da hepatite aguda com (+)-catequina ou placebo, demonstrou uma redução nos níveis séricos de bilirrubina à metade dos valores encontrados no controle, e bem mais rapidamente na queda dos níveis de antígeno de superfície (HBsAg) na hepatite B. PIAZZA *et al.* (1981) na Itália também observaram uma redução na atividade das transaminases, particularmente acentuada em pacientes portadores de hepatite não-A-não-B e na hepatite B (THABREW & HUGHES, 1996). Em outro experimento conduzido na Itália por DI-NOLA & SALASSA (1981) em pacientes com hepatite viral polifásica, após dois meses, todos os pacientes que eram HBsAg positivos e que foram tratados com (+)-catequina tornaram-se HBsAg negativos (THABREW & HUGHES, 1996). Resultados de estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que a (+)-catequina auxiliava a eliminação do vírus da hepatite B pela amplificação da resposta imune mediada por células. Este mecanismo foi demonstrado em testes de inibição da migração leucocitária, utilizando leucócitos de doadores normais e de pacientes HBsAg positivos (VALLOTTON & FREI, 1981). SIPOS *et al.* (1980), demonstraram que a (+)-catequina era capaz de normalizar o número de linfócitos-T em pacientes com doença hepática crônica.

Duas grandes pesquisas clínicas foram conduzidas com (+)-catequina para avaliar seus benefícios na hepatite crônica. Analisando-se o estudo utilizando azatioprina conduzido por AGUILAR *et al.* (1978) na

Alemanha, a (+)-catequina foi comparada, sendo que ambas drogas produziram melhoras clínicas e da função hepática. Enquanto, a azatioprina teve um grande efeito sobre a elevação de imunoglobulinas, (+)-catequina teve atividade benéfica sobre bilirrubina plasmática e o clearance do BSP. A análise histológica de amostras de fígado de pacientes que receberam (+)-catequina também mostrou uma marcante atenuação da inflamação portal. Estudo semelhante foi conduzido por PIAZZA *et al.* (1981) na Itália, onde pacientes com hepatite crônica persistente, observaram significantes reduções nas aminotransferases plasmáticas e nos níveis de imunoglobulinas nos pacientes tratados com (+)-catequina quando comparados ao grupo que recebeu placebo após 6 meses de tratamento (THABREW & HUGHES, 1996).

Um dos primeiros ensaios duplo-cego no estudo dos efeitos da (+)-catequina na doença hepática induzida pelo álcool foi conduzido na Itália por TRAISSAC E BORG (1977). Com uso do (+)-catequina uma acentuada melhora nos testes de função hepática e na necrose hepatocelular e na inflamação do fígado quando comparado ao grupo tratado com placebo. Resultados semelhantes foram obtidos por PALMAS (1981) em pacientes na sua maioria com cirrose hepática compensada (THABREW & HUGHES, 1996). Porém, quando em paralelo, ensaio duplo-cego foram conduzidos por um período de 3 meses por MORGAN *et al.* (1981) na Ucrânia em pacientes com doença hepática pré-cirrótica relacionada ao consumo de álcool, o (+)-catequina não foi capaz de influenciar significativamente o curso da doença.

O curto período de tratamento neste ensaio pode ter sido o responsável pelos resultados negativos (THABREW & HUGHES, 1996).

(+)-catequina exibe atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando estolato de eritromicina, amitriptilina, nortriptilina e *tert*-butilhidroperóxido (DAVILA *et al.*, 1989), diisopropilideno acetona em ratos fenobarbital-induzidos (YOUNES & SIEGERS, 1981), D-galactosamina e etanol (NIEBES & PONARD, 1975).

A **Silimarina** se apresenta como uma mistura isomérica de flavonóides silibina, silidianina e silicristina isoladas do leite do caule da *Silybum marianum* (*Compositae*) substâncias estas de reconhecida atividade antihepatotóxica. A eficácia da silimarina em pacientes sofrendo de hepatite viral aguda foi investigada em estudos duplo-cego conduzidos por MAGLIULO *et al.* pelos idos de 1978. Neste estudo, os níveis de transaminases decresceram rapidamente após o tratamento com a silimarina, quando comparados ao grupo tratado com placebo. Porém, o curso das reações imunitárias, evidenciado pelos títulos de HBsAg não foram influenciados por esta (THABREW & HUGHES, 1996).

Um dos primeiros ensaios duplo-cego que estudaram os efeitos da silimarina em pacientes sofrendo de doença hepática crônica foi conduzida por BERENQUER & CARRASCO em 1977. Neste ensaio, a silimarina provou ser melhor que o placebo, na prevenção do decréscimo da albumina sérica após 3 meses de tratamento. Após, 6 meses de tratamento, foi significativa a melhora nos achados focais de necrose e fibrose no fígado de pacientes com

silimarina quando comparados com aqueles que receberam placebo (THABREW & HUGHES, 1996). Posteriormente dois ensaios duplo-cego investigaram os efeitos da silimarina na hepatite crônica, e estudos foram conduzidos por KIESSEWETTER *et al.* (1977), não estabelecendo efeitos significantes sobre a função hepática, porém para as alterações histopatológicas observadas no fígado, o tratamento com silimarina pareceu ter sido superior quando comparado ao placebo.

Ensaio controlados tem sido conduzidos fora da Europa no estudo da eficácia da silimarina em pacientes com doença induzida pelo álcool. Dois estudos duplo-cego foram conduzidos na Alemanha por KIESSEWETTER *et al.* (1977) em pacientes com hepatite tratados de modo idêntico com silimarina ou com placebo, porém não foram observadas grandes diferenças na função hepática, embora em alguns casos as alterações histológicas sugeriram que o tratamento com a silimarina tenha sido superior ao tratamento instituído com o placebo. Em outro ensaio duplo-cego conduzido por Fintelman e Albert em 1980 (THABREW & HUGHES, 1996) e por SALMI E SARNA (1982), encontraram uma significativa regressão nos níveis séricos de enzimas hepáticas e nos achados histológicos de pacientes tratados com silimarina quando comparados ao grupo placebo. Em um outro ensaio conduzido na Áustria por FERENCI *et al.* (1989) em pacientes cirróticos, mostrou que a silimarina foi capaz de prolongar significativamente a sobrevida.

Um poderoso argumento para o uso terapêutico da silimarina na hepatite viral ou doença hepática produzida por álcool também foi promovido por um ensaio clínico conduzido na Itália recentemente (VAILATA *et al.*, 1993) com IdB 1016 (silipide, um complexo de silibina e fosfatidilcolina). Numa fase II dos ensaios clínicos com a IdB em pacientes sofrendo de hepatite viral aguda e hepatite alcoólica e hepatite crônica (principalmente devido ao álcool) mostraram evidentes efeitos clínicos significantes sobre os parâmetros bioquímicos da função hepática.

A habilidade da silimarina em proteger da destruição hepática produzida por toxinas foi bem demonstrada como sendo muito efetiva em pacientes sofrendo de envenenamento pelo cogumelo *Amanita phalloides*. Um estudo clínico na Alemanha relatou que em 205 pacientes envenenados com *Amanita phalloides* e que foram tratados com silibina nenhum evoluiu para o óbito (FLOERSHEIM *et al.*, 1982). Durante o período de 1980-1981, o Centro de Informação sobre Envenenamentos em Viena, informou que a administração de silibina após a ingestão do cogumelo parece ser eficiente na prevenção da séria destruição hepática observada no envenenamento pela *Amanita phalloides* (HRUBY *et al.*, 1983). Existe uma interrelação entre a severidade da destruição hepática e o começo ou atraso do tratamento com a silibina e a ingestão do cogumelo. Os resultados de uma série de estudos semelhantes, mostram que até o presente momento, a silimarina quando combinada com a penicilina, é considerada a opção terapêutica de escolha no envenenamento pela *Amanita* em muitos países (FLOERSHEIM, 1987).

A silimarina apresenta atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando paracetamol e etinilestradiol (SHUKLA *et al.*, 1991), D-galactosamina (VISEN *et al.*, 1993; SARASWAT *et al.*, 1995), paracetamol (CAMPOS, 1989), *Amanita phalloides*, α -amanitidina e faloidina (HRUBY *et al.*, 1983; FLOERSHEIM, 1987; PIFFERI, 1991), etanol (CONTI *et al.*, 1991; MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995; WANG *et al.*, 1996), estolato de eritromicina, amitriptilina, nortriptilina, *tert*-butilhidroperóxido (DAVILA *et al.*, 1989), tetracloreto de carbono (NAVARRO *et al.*, 1993; MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995), ácido linoleico peroxidado, peróxido de benzóila, hidroperóxido cumênico, adenosina difosfato/Fe⁺³ e ascorbato/Fe⁺² (KISO *et al.*, 1985a; KISO *et al.*, 1985b).

Glicirrizina é um dos principais componentes hepatoprotetores da raiz de alcaçuz, e consiste de uma molécula de ácido glicerritínico e duas moléculas de ácido glicurônico (THABREW & HUGHES, 1996). É extensamente utilizada no Japão para o tratamento de pacientes com doença hepática. Em todos os resultados de ensaios clínicos, a glicirrizina tem sido administrada na forma de uma preparação (SNMC) contendo uma mistura de glicirrizina (40 mg), cisteína (20 mg) e glicina (400 mg) em salina.

Uma pesquisa controlada duplo-cego randomizada comparou a eficácia do SNMC e placebo no tratamento da hepatite pós-transfusão em 336 pacientes por SUZUKI *et al.* (1980). Uma significativa redução da incidência de hepatite não-B após a transfusão foi observado no grupo de indivíduos tratados com SNMC (THABREW & HUGHES, 1996). Seguindo

este trabalho, KASAI *et al.* (1981) e SEKIGUCHI *et al.* (1982), testaram o SNMC na clínica cirúrgica e confirmaram que o SNMC utilizado foi efetivo no tratamento da hepatite pós-transfusão sanguínea. O efeito benéfico do SNMC no tratamento falência sub-aguda hepática devido a hepatite viral foi recentemente notificada por ACHARYA *et al.* (1993) na Índia (THABREW & HUGHES, 1996).

Os efeitos inibitórios diretos da glicirrizina sobre a atividade da hepatite A (HAV) e hepatite B tem sido recentemente demonstrado. CRANCE *et al.* (1994), mostraram que esta promove uma inibição satisfatória da penetração do vírus HAV pela membrana citoplasmática, e que a glicirrizina reduz a infecção em hepatócitos humanos pelo vírus HAV pela inibição da replicação em seus estágios precoces.

A glicirrizina tem sido amplamente utilizada no Japão para o tratamento da hepatite crônica e a cirrose hepática. Um dos primeiros estudos sobre os efeitos terapêuticos benéficos da glicirrizina na hepatite crônica foi conduzida por YAMAMOTO *et al.* em 1958. A administração de uma preparação de glicirrizina (SNMC) melhorou a função alterada hepática em pacientes com hepatite crônica, demonstrado nos testes de retenção de BSP e turvação pelo timol (THABREW & HUGHES, 1996). Desde aquele tempo, inúmeros outros ensaios tem mostrado a competência do SNMC em produzir a melhora da função hepática em pacientes com hepatite crônica ou cirrose hepática (FUJISAWA *et al.*, 1973; SUZUKI *et al.*, 1983). A

administração por longo período de SNMC em pacientes com HBsAg positivo resultou numa acelerada soro-conversão.

A terapia com interferon tem sido extensamente utilizada no tratamento de pacientes com doença hepática crônica devido a infecção pelo vírus HBV, porém seus efeitos secundários são sempre considerados. Experimentos *in vitro* com linfócitos periféricos humanos (SHINADA *et al.*, 1986), conduzidos com a glicirrizina tem demonstrado que esta combinação potencializa a produção de interferon. HAYASHI *et al.* (1991), por esta razão estudaram os efeitos do tratamento de pacientes com hepatite crônica após breve tratamento com glicirrizina e baseando-se na imunomodulação proporcionada por esta antes da administração de interferon foi possível observar maior efetividade no tratamento de pacientes portadores da hepatite B crônica.

A glicirrizina apresenta atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando ácido linoléico peroxidado, peróxido de benzoíla, hidroperóxido cumênico, adenosina difosfato/ Fe^{+3} , ascorbato/ Fe^{+2} (KISO *et al.*, 1985a; KISO *et al.*, 1993b), D-galactosamina e tetracloreto de carbono (KISO *et al.*, 1987; MATSUDA *et al.*, 1991; NOSE *et al.*, 1994).

Na Índia, formulações contendo *Phyllanthus amarus* ou *Phyllanthus niruri* tem sido utilizados por muitos anos em pacientes com hepatite aguda (THYAGARAJAN *et al.*, 1990). DIXIT E ACHAR (1993) foram capazes de demonstrar que crianças com hepatite aguda tratados *P. niruri* somente nas forma de extrato, em 5 dias de tratamento era capaz de

promover o restabelecimento da função hepática alterada. Em um estudo clínico conduzido por JAYANTHI *et al.* (1988), pacientes portadores de hepatite viral aguda foram distribuídos ao acaso para o tratamento com o extrato de *Phyllanthus niruri* ou uma combinação de *Phyllanthus niruri* e *Ricinus communis* ou extratos de outras ervas como a *Eclipta alba* ou *Piper longum* por duas semanas e foram acompanhados clinicamente e bioquimicamente em comparação com o grupo controle que recebeu o tratamento alopático convencional. Os resultados mostraram uma melhora clínica e bioquímica significativa no grupo tratado com *Phyllanthus* em ambos pacientes HBsAg positivos e negativos quando comparado aos outros grupos. Mais recentemente, GEETHA *et al.* (1992), comparam a eficácia do *Phyllanthus amarus* e a Essentiale, uma preparação comercial de fosfolípídeos essenciais, em uma experiência clínica virológica em pacientes portadores de hepatite viral aguda. Eles estabeleceram que tanto a *Phyllanthus niruri* como a Essentiale melhoraram a função hepática em pacientes com hepatite aguda, com a *Phyllanthus amarus* produzindo uma veloz e significativa normalização das alterações bioquímicas quando comparados ao grupo Essentiale e controle (THABREW & HUGHES, 1996).

A espécie *Phyllanthus* apresenta atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando tetracloreto de carbono (SHARMA *et al.*, 1991; RAO *et al.*, 1993)

A droga bruta **Saiko** das raízes da *Bupleurum falcatum* tem sido extensamente utilizada na medicina oriental para o tratamento de doenças

hepatobiliares. Os componentes ativos responsáveis pelo alívio da disfunção hepática tem sido identificado como uma mistura de SAIKOSAPONINAS. Estudos clínicos conduzidos fora do Japão por YAMAMOTO *et al.* (1981), mostrou que a administração de uma mistura de SAIKOSAPONINAS a e b (3:2) em baixas doses foi eficaz, tendo em vista a redução significativa dos níveis séricos de transaminases em pacientes com hepatite crônica (THABREW & HUGHES, 1996). Seguindo estas investigações, ensaios clínicos tem sido conduzidos por pesquisadores Japoneses ocidentais, sobre a efetividade de preparações contendo *Buplerum* de raízes no tratamento de doenças crônicas hepáticas. Em outro estudo, pacientes com hepatite crônica de mais de 4 anos de duração foram tratados com **Sho-Saiko-To** (uma preparação de *Blupeurum* vendida na China), por vários meses. Uma significativa melhora foi observada na função hepática, após 2-3 meses de medicação por YAMAMOTO *et al.* (1985) (THABREW & HUGHES, 1996). Recentemente, um ensaio também foi conduzido no Japão, investigando os efeitos da Sho-Saiko-To (Xia-Chai-Hu-Tang) sobre a redução da HBsAg em crianças portadoras de hepatite B crônica viral infecciosa e sustentada doença hepática (TAJIRI *et al.*, 1991). Os níveis de redução de HBsAg no grupo tratado com Sho-Saiko-To foi aparentemente mais elevado quando comparado aos pacientes não tratados anteriormente. A revista de resumos publicados na literatura mostra que inúmeros ensaios clínicos tem sido conduzido na China para o teste da eficácia de preparações a base de *Bupleurum* como a Sho-Saiko-To em pacientes com hepatite crônica.

A espécie *Bupleurum falcatum* exibe atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando a D-galactosamina (ABE *et al.*, 1980; YEN *et al.*, 1994).

Os frutos da *Schizandra chinensis* e plantas relacionadas tem sido usadas no Japão e Oriente para o tratamento de doenças hepáticas. A atividade hepatoprotetora destas frutas é em muito atribuído a uma série de constituintes como os LIGNANAS (Gomisins A, C, e N, Wuweizisu C e Schisantherin D) (THABREW & HUGHES, 1996). Em um ensaio descrito por THABREW & HUGHES (1996) o total de princípios ativos da *Schizandra chinensis* foi extraída com etanol e administrada a um total de 189 casos de hepatite crônica viral. Naqueles pacientes que receberam o extrato de *Schizandra* os níveis da ALT retornaram à normalidade mais rapidamente em termos temporais quando comparados ao grupo controle (complexo de vitamina E-extrato de fígado).

Os frutos da *Schizandra chinensis* apresentam atividade em protocolos experimentais utilizando a fração macromolecular proteica trinitrofenilada (MIZOGUCHI *et al.*, 1991) e tetracloreto de carbono (IP *et al.*, 1995; KO *et al.*, 1995).

O Picroliv é uma fração glicosídica obtida da espécie *Picrorrhiza kurroa*. Em um estudo recente (THABREW & HUGHES, 1996), foi conduzido um ensaio duplo-cego aleatório em portadores de hepatite crônica com mais de 5 anos de duração. Os pacientes foram submetidos à tratamentos com *Picrorrhiza kurroa* e *Phyllanthus amarus*, e uma combinação de *Picrorrhiza*

kurroa mais *Phyllanthus amarus* (1:1) e placebo por um período 3 meses. Os resultados mostraram um acentuado declínio nas taxas de HBsAg no grupo tratado com *Picrorrhiza kurroa* e *Phyllanthus amarus*, quando comparado com outros grupos.

A espécie *Picrorrhiza kurroa* apresenta atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando etanol (RASTOGI *et al.*, 1996), regeneração hepática (SRIVASTAVA *et al.*, 1996), tiocetamida (DWIVEDI *et al.*, 1991; DWIVEDI *et al.*, 1993); paracetamol, etinilestradiol (SHUKLA *et al.*, 1991); D-galactosamina (DWIVEDI *et al.*, 1993; VISEN *et al.*, 1993) e tetracloreto de carbono (RAO *et al.*, 1993).

Em um estudo duplo-cego cruzado conduzido na Itália por ZUIN *et al.* (1987), em pacientes com doença hepática crônica induzida pelo álcool e por drogas, uma preparação padronizada de **Ginseng** com TRACE ELEMENTS e polivitaminas foram capazes de induzir a significativa alterações em alguns índices de função hepática como os ácidos séricos de origem biliar, tempo de retenção do BSP, porém não sendo observados alterações significantes a respeito dos níveis de transaminases e bilirrubina nos grupos tratados igualmente com o extrato ou placebo.

A espécie *Panax ginseng* exibe atividade hepatoprotetora em protocolos experimentais utilizando D-galactosamina, α -naftil isotiocianato, tetracloreto de carbono (MATSUDA *et al.*, 1991); D-galactosamina e tetracloreto de carbono (HIKINO *et al.*, 1985).

5. OBJETIVOS

5. OBJETIVOS

1º) Analisar o perfil enzimático da ALT e AST em ratos tratados com os EHEs de *S. paniculatum* L., *S. variabile* M., *S. nigrum* L. e *S. cernuum* V., submetidos a protocolo de hepatopatia induzida pelo CCl₄.

2º) Analisar o perfil das concentrações sanguíneas do pigmento tetrapirrólico bilirrubina IX_α total e direta em ratos tratados com os EHEs de *S. paniculatum* L., *S. variabile* M., *S. nigrum* L. e *S. cernuum* V., submetidos a protocolo de hepatopatia induzida pelo CCl₄.

3º) Analisar o perfil histopatológico (esteatose, necrose e tumefação turva) em ratos tratados com os EHEs de *S. paniculatum* L., *S. variabile* M., *S. nigrum* L. e *S. cernuum* V., submetidos a protocolo de hepatopatia induzida pelo CCl₄.

4º) Validar preliminarmente, a partir dos resultados bioquímicos e histopatológicos obtidos, a utilização popular destas espécies como agentes úteis no tratamento de doenças hepáticas.

6. MATERIAL E MÉTODO

6. MATERIAL E MÉTODO

6.1. ANIMAIS UTILIZADOS

➤ Para a realização dos procedimentos experimentais foram utilizados 78 ratos (*Rattus norvegicus* - albinus, Wistar), adultos jovens (30 dias), machos, pesando entre 150 e 200 g, S.P.F., criados em condições padronizadas desde o nascimento pelo Centro de Bioterismo da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

➤ Estes foram alocados para as dependências do biotério de experimentação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba onde permaneceram uma semana, para sua adequada adaptação, sendo tratados com ração balanceada comercial¹ (constituição - vide anexos), água "ad libitum" e ciclo claro-escuro de 12 horas.

➤ Durante as 26 horas que antecederam o sacrifício dos animais, estes foram mantidos em jejum com água "ad libitum", tendo a via intragástrica eleita para a administração dos extratos, veículos e CCl₄.

¹ NUVILAB CR - 1 AUTOCLAVÁVEL - Ração para animais de laboratório - CÓDIGO 6003

6.1.1. GRUPO CONTROLE

⇒ Os animais destes grupos receberam os respectivos veículos da hepatotoxina e dos extratos vegetais em volumes equivalentes àqueles dos grupos tratados.

6.2. SELEÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS, COLETA, IDENTIFICAÇÃO, MONTAGEM DAS EXSICATAS, LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO E OBTENÇÃO E PREPARO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICO EVAPORADOS.

6.2.1. SELEÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS

⇒ Para a seleção das espécies vegetais foi utilizada a indicação da literatura nacional e internacional existente a respeito de plantas com possível atividade hepatoprotetora, adotando-se o critério etnofarmacológico e quimiotaxonômico.

6.2.2. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

⇒ As espécies vegetais foram coletadas em regiões próximas à Bragança Paulista onde medram espontaneamente. Uma vez obtidas, as plantas foram

identificadas pelo Prof. Dr. Fernando de Oliveira, Pesquisador e Titular da Disciplina de Farmacotânica da Universidade São Francisco.

- *Solanum paniculatum* L.: caule, flores e folhas. Período de coleta (08/96).
- *Solanum variabile* Mart.: caule, flores e folhas. Período de coleta (06/96).
- *Solanum nigrum* L.: caule, flores e folhas. Período de coleta (11/96).
- *Solanum cernuum* Vell.: caule, flores e folhas. Período de coleta (07/96).

6.2.3. MONTAGEM DAS EXSICATAS

6.2.3.1. Após a coleta do material botânico foram confeccionadas as exsicas, de acordo com normas técnicas padronizadas (OLIVEIRA & AKISSUE, 1998), como segue:

➡ colheu-se as plantas frescas com todas as suas partes aéreas (caules, flores e folhas);

➡ estas foram acondicionadas entre jornais e em seguida prensadas com auxílio de suportes de madeira tendo sido amarrados firmemente;

⇒ colocou-se os suportes com as plantas em estufa de secagem e esterilização² para secagem total das mesmas em temperatura estável de 40°C durante 24h;

⇒ após o período de secagem, foram confeccionadas as exsiccatas, sendo as plantas fixadas em papel branco de cartolina;

⇒ colocou-se uma etiqueta de identificação em cada uma das exsiccatas, onde constava o nome científico, origem, nome do coletor e a data;

⇒ as exsiccatas foram depositadas no Herbário Frei Velloso do Laboratório Centro Multidisciplinar de Pesquisa da Universidade São Francisco (VELL) onde permanecem como material referência de estudo sob as seguintes designações:

- *Solanum paniculatum* L.: VELL nº 74.
- *Solanum variabile* Mart: VELL nº 77
- *Solanum nigrum* L.: VELL nº 08
- *Solanum cernuum* Vell.:VELL nº 653

6.2.4. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO DAS ESPÉCIES SELECIONADAS

² Estufa de secagem e esterilização - FANEM - Modelo 315 SE

⇒ As espécies selecionadas *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* Mart., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* Vell. tiveram o levantamento bibliográfico realizado utilizando-se o Biological Abstracts, Index Medicus e Quimical Abstracts, desde 1980. Os principais artigos encontrados estão listados na bibliografia.

6.2.5. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

⇒ Adotou-se o método de preparação dos extratos, descrito no Processo "A" da Farmacopéia Brasileira 1^o e 2^o edições para as espécies coletadas.

⇒ O material botânico coletado foi transportado até as dependências do Laboratório Centro Multidisciplinar de Pesquisa da Universidade São Francisco para seu processamento, obedecendo as seguintes etapas:

⇒ separação e pesagem das partes aéreas das plantas frescas em balança digital³;

⇒ as partes aéreas separadas foram divididas em pedaços de aproximadamente 5 cm de comprimento e submetidos à secagem a temperatura ambiente por 45 dias;

³ Balança digital 500 g - MARTE - Modelo AS

- pesagem das partes aéreas das plantas secas em balança digital⁴;

- pulverização da droga seca (caules, flores e folhas) em moinho de facas e martelos⁵ até a obtenção de um pó semi-fino de acordo com especificações da Farmacopéia Brasileira 1^o e 2^o edições;

- passagem do pó obtido em Tamis nº IV para pós-semifinos, originando partículas de diâmetro máximo de 0,28 mm;

- maceração prévia do pó em solução hidroalcoólica 70%⁶ por 24h;

- percolação⁷ posterior do material macerado utilizando-se como líquido extrator uma solução hidroalcoólica a 70%, com gotejamento contínuo de 12 gotas por minuto, sendo este aferido⁸ a cada hora, onde para cada kg de planta utilizou-se oito litros da correspondente solução;

- após as primeiras 12h de extração, foi retirado em cálice graduado⁹ o extrato forte que correspondeu a 85% da quantidade final do extrato bruto que estava sendo preparado;

⁴ Balança digital 500 g - MARTE - Modelo AS

⁵ Moinho de facas e martelos para análise - FOLIAR - Modelo MR-340

⁶ Etanol absoluto - MERCK - Artigo 21604

⁷ Percolador de aço inox capacidade de 2 l - UNIVERSAL - Modelo 304

⁸ Relógio contador de minuto HERWEG

⁹ Cálice graduado de 1000 mL - LABORGLAS®

➔ foi então, adicionado mais solução hidroalcoólica a 70% no percolador, para a obtenção do extrato fraco;

➔ quantidade de extrato fraco obtida foi equivalente a 15% do extrato bruto final. Para isso, o mesmo foi reduzido em rotavapor¹⁰ para a retirada do excesso de álcool a 45°C, à 14 giros por minuto;

➔ o extrato forte (850 ml) foi adicionado ao extrato fraco (150 mL), resultando em um extrato bruto de proporção 1:1 (1 kg de planta para 1 litro de extrato fluído);

➔ uma alíquota padronizada de 150mL de cada extrato hidroalcoólico bruto foi então evaporado por um período de 120h até a obtenção de uma substância de consistência pastosa (extrato hidroalcoólico evaporado - EHE), na proporção correspondente de:

- *Solanum paniculatum* L.: 150 mL originou 26,043 g de EHE;
- *Solanum variable* Mart.: 150 mL originou 30,527 g de EHE;
- *Solanum nigrum* L.: 150 mL originou 35,87 g de EHE;
- *Solanum cernuum* Vell.: 150 mL originou 27,51 g de EHE.

➔ Após os procedimentos descritos acima, os EHE foram ressuspensos em solução de NaCl 0,9%¹¹, em concentração padronizada para todos os

extratos de 300 mg.mL^{-1} , mantidos sob contínua agitação¹² para administração intragástrica. Todos os extratos ressuspensos foram preparados extemporaneamente.

6.3. IDENTIFICAÇÃO DE ALCALÓIDES (PROCESSO A) (COSTA, 1967)

- Colocou-se 2 gramas de droga pulverizada em um béquer de 25 mL;
- extraiu-se, a frio, com 15 mL de ácido sulfúrico¹³ diluído a 2%, deixando o solvente por 15 minutos em contato com a droga;
- filtrou-se a mistura em papel de filtro, recebendo o filtrado em um funil de separação;
- repetiu-se a extração duas vezes com 15 mL de ácido sulfúrico diluído a 2%;
- colocou-se os extratos em funil de separação alcalinizando-se a solução com hidróxido de amônio¹⁴ a 10%, extraiu-se os alcalóides livres com 15 mL de clorofórmio¹⁵, repetindo-se duas vezes esta etapa;

¹⁰ Rotavapor - FISATOM - Modelo 802

¹¹ Cloreto de sódio cristalizado para análise - MERCK - Artigo 6404

¹² Agitador magnético com aquecimento - ALPHALAB - Modelo AA 520

⇒ dividiu-se o extrato em duas porções, a primeira para a realização da reação de coloração e a segunda para as reações de precipitação, após evaporar-se esta última, retomando-se com 0,5 mL de ácido sulfúrico a 1%.

6.3.1. IDENTIFICAÇÃO ATRAVÉS DE REAÇÃO DE COLORAÇÃO PARA ALCALÓIDES

⇒ Evaporou-se para a reação de coloração, 1,0 mL de solução clorofórmica anteriormente obtida, em placas de toque (porcelana);

⇒ pingou-se ao resíduo 1 gota do reativo de MARQUIS (formaldeído-ácido sulfúrico);

⇒ observou-se o desenvolvimento de cor, a frio e à quente.

6.3.2. IDENTIFICAÇÃO ATRAVÉS DE REAÇÕES DE PRECIPITAÇÃO PARA ALCALÓIDES

⇒ Colocou-se um gota do extrato ácido anteriormente obtido sobre três lâmina microscópicas;

¹³ Ácido sulfúrico - SYNTH - Artigo 31190

¹⁴ Hidróxido de amônio - SYNTH - Artigo 31790

¹⁵ Clorofórmio - MERCK - Artigo 21506

- ➔ adicionou-se uma gota dos reativo preparados, **MAYER** (cloro-iodo-mercuriato de potássio), **DRAGENDOFF** (iodo-bismutato de potássio) e **BOURCHARDAT** (triiodeto de potássio) em lâminas distintas;

- ➔ uniu-se com auxílio de um bastão de vidro de ponta as duas gotas de cada lâmina;

- ➔ observou-se, na zona de contato dos dois líquidos, a formação de precipitado colorido.

6.4. IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES (COSTA, 1967)

6.4.1. EXTRAÇÃO DOS FLAVONÓIDES

- ➔ Pesou-se em balança analítica, 2 gramas do pó de droga;

- ➔ colocou-se em um béquer e juntou-se 15 mL de etanol a 80%;

- ➔ aqueceu-se em ebulição por 5 minutos;

- ➔ esfriou-se e filtrou-se através de papel de filtro, reservando a solução obtida para as reações de identificação.

6.4.2. PROCESSOS GENÉRICOS DE IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES

6.4.2.1. REAÇÃO DE SHINODA:

⇒ Adicionou-se em 2 mL do filtrado, colocado em tubo de ensaio, 2 fragmentos de magnésio metálico¹⁶;

⇒ juntou-se ao conjunto 15 gotas de ácido clorídrico concentrado, observando depois de alguns minutos, o desenvolvimento de coloração variando de rosácea a vermelha se positivo para a presença destas substâncias.

6.4.2.2. REAÇÃO COM CLORETO DE ALUMÍNIO

⇒ Depositando-se 5 gotas de extrato em duas regiões do papel de filtro, deixou-se secar;

⇒ em uma das regiões, colocou-se uma gota de solução de cloreto de alumínio¹⁷ a 5 % em etanol;

¹⁶ Magnésio metálico - RIEDEL-DE HAEN AG SEELZER-HANNOVER - Artigo 13110

¹⁷ Cloreto de alumínio - MERCK - Artigo 801082

⇒ secando-se e expondo-se à luz ultra-violeta, procurou-se verificar o comportamento das duas regiões frente fluorescência da luz UV.

6.4.2.3. REAÇÃO COM CLORETO FÉRRICO

⇒ Adicionou-se a 3 mL do extrato, gotas de cloreto férrico¹⁸ a 4,5 %, procurando-se verificar o desenvolvimento de cor que pode variar do verde, amarelo castanha, violeta de acordo com o a presença do composto flavonoídico.

6.4.2.4. REAÇÃO COM HIDRÓXIDO DE SÓDIO

⇒ A 3 mL do extrato, colocou-se algumas gotas de hidróxido de sódio¹⁹ a 5% e procurou-se observar o aparecimento de cor amarela, que varia de intensidade.

6.4.2.5. REAÇÃO COM CLORETO DE ANTIMÔNIO

⇒ Mediu-se 3 mL de extrato flavonoídico, evaporando-se até completa *secura*;

¹⁸ Cloreto férrico - MERCK - Artigo 3943

¹⁹ Hidróxido de sódio - MERCK - Artigo 6498

⇒ redissolveu-se em 5 mL de tetracloreto de carbono, juntando-se 1 mL de solução de penta cloreto de antimônio a 2%, procurando-se observar o desenvolvimento de coloração amarela, indicativo da presença de flavonóides.

6.4.2.6. REAÇÃO COM OXALO-BÓRICO

⇒ Ao resíduo do extrato, juntou-se 3 mL de solução de ácido bórico²⁰ a 3% e 1 mL de solução de ácido oxálico²¹ a 10%;

⇒ atritou-se e evaporou-se em banho-maria até a secura, prolongando-se o aquecimento por mais 5 minutos;

⇒ esfriou-se o resíduo e juntou-se 10 mL de éter, e observou-se a solução etérea em luz ultra-violeta, procurando-se visualizar fluorescência amarelo-esverdeado.

6.5. IDENTIFICAÇÃO DE SAPONINAS (COSTA, 1967)

6.5.1. PROCESSO FÍSICO DE IDENTIFICAÇÃO DE SAPONINAS

²⁰ Ácido bórico - MERCK - Artigo 165

²¹ Ácido oxálico - MERC - Artigo 495

- Ferveu-se cerca de 2 g da droga pulverizada com 15 mL de água durante 5 minutos;
- filtrou-se através de papel de filtro deixando-se esfriar;
- colocou-se 10 mL do extrato em um tubo de ensaio, arrolhando-se e agitando-se vigorosamente, no sentido vertical durante 5 segundos;
- deixou-se a solução em repouso, por 30 minutos procurou-se observar a permanência de espuma abundante.

6.5.2. PROCESO QUÍMICO DE IDENTIFICAÇÃO DE SAPONINAS

6.5.2.1. OBTENÇÃO DE SAPOGENINAS

➤ A 90 mL de extrato aquoso a 5%, adicionou-se 10 mL de ácido clorídrico R²², deixando-se em refluxo por 1 hora. Esfriou-se o extrato e procurou-se extrair as sapogeninas com clorofórmio. Com este extrato clorofórmico realizou-se as reações de identificação.

6.5.2.2. REAÇÕES SOBRE O RESÍDUO

²² Ácido clorídrico - MERCK - Artigo 21603

-
- ☛ Em cada reação de identificação evaporou-se cerca de 5 mL do extrato clorofórmico;

 - ☛ Reação de ROSSOL - com uma gota de ácido sulfúrico, desenvolve-se cor vermelha ou violeta; se positivo para a presença de saponinas;

 - ☛ Reação de MITCHELL - com uma gota de ácido sulfúrico e vestígios de nitrato de prata, dá a cor vermelha, se positivo para a presença de saponinas;

 - ☛ Reação de BRIESKORN & BRINER - com uma gota de ácido clorosulfônico a 33% em ácido acético glacial concentrado forma cor azul arroxeada, se positivo para a presença de saponinas;

 - ☛ Reação de MOLLER - com duas gotas de mistura de cloreto de tionila e cloreto de estanho IV (5:1), deve aparecer cor vermelha-arroxeada, se positivo para a presença de saponinas;

 - ☛ Reação de ROSENTHALEM - com duas gotas de solução a 1% de vanilina em ácido clorídrico concentrado, deve aparecer à quente, cor azul-arroxeada, se positivo para a presença de saponinas;

⇒ Reação com reativo sulfo-vanílico - com 2 gotas de solução a 1% de vanilina em ácido sulfúrico concentrado, deve aparecer, após, aquecimento, uma cor violeta azulada, se positivo para a presença de saponinas;

⇒ Reação de LIEBERMANN - ressuspendeu-se em ácido acético glacial, o resíduo da evaporação do extrato clorofórmico, junta-se 2 gotas do cloreto férrico SR, colocando-se a mistura em um tubo de ensaio. Com cuidado, verteu-se pela parede do tubo de ensaio, igual volume de ácido sulfúrico concentrado. Na superfície de contato dos dois líquido procurou-se observar o desenvolvimento de cor pardo-avermelhada, indicativo da presença de saponinas.

6.6. IDENTIFICAÇÃO DE TANINOS (COSTA, 1967)

6.6.1. EXTRAÇÃO DE TANINOS

⇒ Pesou-se 3 gramas de droga pulverizada, extraindo o tanino com 40 mL de água destilada fervente por 2 minutos;

⇒ filtrou-se através de papel de filtro, procurando-se manter o pó no fundo do recipiente. Repetiu-se duas vezes esta extração com 10 mL de água destilada;

⇒ filtrou-se as duas extrações sobre o primeiro filtrado, reservando-se este extrato para as reações de identificação pertinentes.

6.6.2. REAÇÕES GERAIS DE TANINOS

6.6.2.1. REAÇÃO COM CLORETO FÉRRICO

⇒ A 1 mL de solução extrativa, juntou-se 5 mL de água destilada e uma gota de cloreto férrico²³ 2%. Procurou-se observar a formação de precipitado ou desenvolvimento de cores diversas - preta, verde ou azul, indicativos da presença desta substância.

6.6.2.2. REAÇÃO COM SOLUÇÃO AQUOSA DE ALCALÓIDE

⇒ A 1 mL de solução extrativa, adicionou-se 5 gotas de ácido clorídrico diluído e depois 2 gotas de sulfato de quinino monohidratado²⁴, procurando-se observar a formação de precipitado esbranquiçado.

6.6.2.3. REAÇÃO COM ACETATO NEUTRO DE CHUMBO

²³ Cloreto férrico - ECIBRA - Artigo 796

²⁴ Sulfato de quinino monohidratado - ALDRICH - Catálogo 14.591-2

⇒ A 1 mL de solução extrativa, adicionou-se 2 gotas de solução aquosa de acetato neutro de chumbo²⁵, procurando-se observar a formação de precipitado castanho-avermelhado volumoso e denso.

6.6.2.4. REAÇÃO COM SOLUÇÃO AQUOSA DE ACETATO DE COBRE

⇒ A 1 mL de solução extrativa, juntou-se 3 gotas de solução aquosa de acetato de cobre²⁶ a 5 %, onde procurou-se observar a formação de precipitado castanho-avermelhado.

6.7. TÉCNICA DA HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELO TETRACLORETO DE CARBONO (CCl₄) (GILANI & JANBAZ, 1995)

6.7.1. PÓS-TRATAMENTO DOS RATOS COM MÚLTIPLAS DOSES

⇒ Em uma série de ensaios, o efeito curativo dos EHE foi estudado sob a ação do CCl₄, promovendo lesões hepáticas. Para tanto as unidades experimentais foram divididas aleatoriamente em 6 grupos para a espécie *Solanum paniculatum* L (esquema 1 - anexos), e 4 grupos para as espécies

²⁵ Acetato neutro de chumbo - MERCK - Artigo 7375

²⁶ Acetato de cobre - MERCK - Artigo 2711

Solanum variabile Mart., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* Vell. (esquema 2 - anexos), com 8 animais cada. As unidades experimentais dos grupos do *Solanum paniculatum* L. receberam no tempo 0, respectivamente, **G1**, **G2** e **G3** (óleo de oliva $3,75 \text{ mL.kg}^{-1}$, intragástricamente - *i.g.*), **G4**, **G5** e **G6** (CCl_4 - 1.5 mL.kg^{-1} em óleo de oliva a 40% v/v; *i.g.*). Já para as demais espécies, os grupos receberam no tempo 0, **G1** e **G2** (óleo de oliva $3,75 \text{ mL.kg}^{-1}$, *i.g.*), **G3** e **G4** (CCl_4 - 1.5 mL.kg^{-1} em óleo de oliva a 40% v/v; *i.g.*). Nos tempos 6, 12 e 18h, os grupos do *Solanum paniculatum* L. receberam, *i.g.*, **G1** (veículo do EHE, $3,0 \text{ mL.kg}^{-1}$), **G2** e **G3** (EHE - 0,5 e $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ respectivamente), **G4** (veículo do EHE, $3,0 \text{ mL.kg}^{-1}$), **G5** e **G6** (EHE - 0,5 e $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ respectivamente), sendo para as demais espécies, **G1** (veículo do EHE, $3,0 \text{ mL.kg}^{-1}$), **G2** (EHE - $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$), **G3** (veículo do EHE, $3,0 \text{ mL.kg}^{-1}$), **G4** (EHE - $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). O grupo **G1** se constituiu para todas as espécies estudadas no controle, recebendo o veículo do CCl_4 (óleo de oliva $3,75 \text{ mL.kg}^{-1}$ de peso corporal, *i.g.*) e posteriormente NaCl 0,9% ($3,0 \text{ mL.kg}^{-1}$ de peso corporal, *i.g.* - diluente dos extratos), de acordo com o esquema descrito anteriormente. Todas administrações foram realizadas por intermédio de sonda intragástrica²⁷ apropriada. Decorridas 24h da administração do CCl_4 ou seu veículo, os animais de todos os grupos foram superficialmente anestesiados com éter etílico²⁸ para a coleta de sangue e posterior sacrifício

²⁷ Sonda intragástrica - POPPER - Modelo 7946 4 EA - Animal feeding - NDLS-CVD 16x4^o W 13 mm ball.

²⁸ Éter etílico para análise - CHEMCO - Código 8664.

para a retirada de espécimes hepáticos visando análises bioquímicas e histopatológicas respectivamente.

6.8. COLHEITA DE SANGUE PARA A DETERMINAÇÃO DAS AMINOTRANFERASES, BILIRRUBINA TOTAL E DIRETA

⇒ Após prévia e superficial anestesia em cuba de vidro com éter etílico, procedeu-se a retirada do sangue por decapitação, recolhendo este em um tubo de ensaio de 5 mL limpo e seco, sem anticoagulante, onde deixou-se o sangue escorrer suavemente pelas paredes do tubo, até um valor mínimo estipulado de 3 mL de sangue total.

6.8.1. PREPARO DAS AMOSTRAS DE SANGUE

⇒ Para a obtenção do soro, colocou-se o sangue retirado em tubos de ensaio de 5 mL limpos e secos, sem anticoagulante, deixando-o coagular espontaneamente. Isto requereu cerca de 15 minutos, com o sangue mantido à temperatura de 37°C em banho-maria²⁹.

⇒ O coágulo formado que aderiu às paredes do tubo era separado roçando-se apenas uma vez com uma vareta de vidro em toda a profundidade da

²⁹ Banho maria - FANEM - Modelo 102

amostra, pela periferia do tubo³⁰. A seguir, centrifugou-se³¹ a 2.500 rpm durante 10 minutos.

⇒ Deixou-se o coágulo retraindo antes da centrifugação, para se obter um volume maior de soro assim como para evitar hemólise, fenômeno indesejado, devido sua importante interferência nas dosagens bioquímicas. A temperatura de 37°C favoreceu a obtenção de um volume maior de soro.

⇒ Uma vez centrifugado, com o coágulo sedimentado, o soro era separado através de uma micropipeta³² para tubos de ensaio de 5 mL limpos e secos, etiquetados com o código da respectiva amostra.

6.9. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DAS AMINOTRANSFERASES NO SORO (REITMAN & FRANKEL, 1957)

6.9.1. PRINCÍPIO

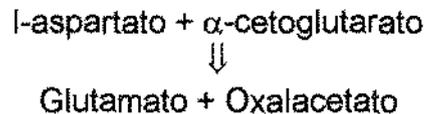
⇒ As aminotransferases são enzimas derivadas da piridoxina (vitamina B₆), responsáveis pela transferência de radicais amino para alfa-cetoglutarato na síntese de aminoácidos não essenciais.

³⁰ Tubo de ensaio - PYREX® - nº 9800

³¹ Porta-centrifuge - TOMY SEIKO - Model IC-15AN

³² Micropipette 100-1000µL - SOCOREX - Category nº 822.1000

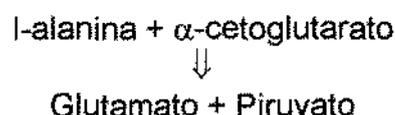
⇒ A aspartato aminotransferase (AST) catalisa a transferência do grupo amina do ácido aspártico para o ácido alfa-cetoglutárico, formando ácido oxaloacético e ácido glutâmico.



⇒ O produto formado, ácido oxaloacético pela ação da aspartato aminotransferase, vai se combinar com a 2-4 dinitrofenilhidrazina para formar 2-4 dinitrofenilhidrazona, onde a concentração de 2-4 dinitrofenilhidrazona formada será diretamente proporcional à intensidade de cor marrom detectada em solução alcalina, sendo fotocolorimetricamente medida, com absorção máxima ocorrendo em comprimentos de onda a 505 nm.

⇒ Uma unidade de aspartato aminotransferase corresponde à quantidade de atividade enzimática em 1 mL de soro que faz baixar a absorbância 0,001 em 1 minuto, nas condições padronizadas (temperatura, pH ótimos e concentração do substrato).

⇒ A alanina aminotransferase (ALT) catalisa a transferência do grupo amina da alanina para o ácido alfa-cetoglutárico. Formando ácido glutâmico e ácido pirúvico:



⇒ O produto formado, ácido pirúvico pela ação da alanina aminotransferase, vai combinar com a 2-4 dinitrofenilhidrazina para formar a 2-4 dinitrofenilhidrazona, onde a concentração da 2-4 dinitrofenilhidrazona detectada será diretamente proporcional à intensidade de cor formada em solução alcalina, sendo fotocolorimetricamente medida, com absorção máxima de leitura ocorrendo em comprimento de onda a 505 nm.

⇒ Uma unidade de alanina aminotransferase corresponde à quantidade de atividade enzimática em 1 mL de soro que faz baixar a absorbância 0,001 em 1 minuto, em condições padronizadas (temperatura, pH ótimos e concentração do substrato).

6.9.2. TÉCNICA PARA O DOSEAMENTO DA ASPARTATO-AMINOTRANSFERASE E ALANINA-AMINOTRANSFERASE A PARTIR DE AMOSTRAS DE SORO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS

⇒ Rotulou-se os tubos de ensaio de 5 ml limpos e secos com "AST" para a aspartato-aminotransferase e "ALT" para alanina-aminotransferase;

⇒ pipetou-se 0,5 mL de substrato AST³³ e 0,5 ml de substrato ALT³⁴;

³³ Reagente de nº 1 - Transaminase - LABTEST - Categoria nº 22

³⁴ Reagente de nº 2 - Transaminase - LABTEST - Categoria nº 22

- ⇒ aqueceu-se os tubos em banho-maria à 37°C por exatamente dois minutos³⁵;
- ⇒ pipetou-se³⁶ 0,2 mL de cada amostra de soro nos tubos previamente identificados contendo o substrato AST e 0,1 mL de cada amostra de soro nos tubos previamente identificados contendo o substrato ALT;
- ⇒ incubou-se todos os tubos com seus respectivos conteúdos a 37°C em banho-maria por exatos 20 minutos;
- ⇒ após, pipetou-se 0,5 mL de reagente de cor 2-4 dinitrofenilhidrazina³⁷ a cada tubo homogenizando-se bem com agitador³⁸;
- ⇒ deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 20 minutos;
- ⇒ pipetou-se³⁹ 5,0 mL da solução de hidróxido de sódio⁴⁰ a 0,4N a cada tubo, homogenizando-se novamente bem com um agitador;
- ⇒ deixou-se as amostras em repouso à temperatura ambiente por 5 minutos;

³⁵ Cronômetro digital - STOPWATCH - Modelo sports

³⁶ Micropipette 20-200 µL - SOCOREX -Category nº 822.0200

³⁷ Reagente de nº 3 - Transaminase - LABTEST - Categoria nº 22

³⁸ Agitador de tubos PHOENIX - Modelo AP 56

³⁹ Pipeta de vidro de 5 mL in 1/10 - VIDROLABOR®

⁴⁰ Reagente de nº 4 - Transaminase - LABTEST - Categoria nº 22

⇒ efetuou-se as leituras espectrofotométricas⁴¹ em comprimento de onda de 505 nm;

⇒ os valores de leitura em transmitância, foram convertidos em unidades internacionais por mililitro após o uso da curva de calibração em papel monolog⁴²,

⇒ quando os resultados obtidos da amostra de soro foram maiores que 180 unidades para a AST e 140 unidades para a ALT, diluiu-se a amostra de soro com água destilada e solução de NaCl a 150 mmol.L⁻¹ respectivamente, procedendo a nova determinação, multiplicando-se o resultado obtido pelo fator de diluição. Para maior exatidão a diluição do soro não foi maior que o necessário a fim de que o valor desejado com o soro diluído ficasse entre 50 e 150 unidades para a AST e 40 a 120 unidades para a ALT.

6.9.3 PREPARO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DA AST E ALT

⇒ Do ponto de vista colorimétrico, como a velocidade da reação intermediada por estas enzimas não é proporcional às suas atividades enzimáticas, torna-se impossível a utilização do método de fator colorimétrico, sendo necessário a preparação de uma curva de calibração.

⁴¹ Espectrofotômetro Colorimétrico - BECKMAN - Modelo DU 65 - Memory Pac™ Module/Soft Pac™ Module

⇒ A curva de calibração foi obtida através dos seguintes procedimentos:

⇒ identificou-se 5 tubos⁴³ limpos e secos de 10 mL com números de "1" à "5";

⇒ pipetou-se os reagentes padrão piruvato⁴⁴, substrato AST, substrato ALT e reagente de cor de acordo com tabela abaixo:

REAGENTES	TUBOS				
	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
PADRÃO PIRUVATO	-	0,1	0,2	0,3	0,4
SUBSTRATO ALT/AST	1,0	0,9	0,8	0,7	0,6
H ₂ O DESTILADA	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
REAGENTE DE COR	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

⇒ homogenizou-se bem os conteúdos dos respectivos tubos com auxílio de agitador, descansando posteriormente os mesmos por exatos 20 minutos à temperatura ambiente;

⁴² Papel mono-log, formato A-4 210 x 297 mm - Divisão 153x270 mm - PROBUS

⁴³ Tubos de ensaio - Pyrex® - nº 9800

⁴⁴ Reagente de nº 5 - Transaminase - LABTEST - Categoria nº 22

⇒ pipetou-se⁴⁵ 10 ml de hidróxido de sódio 0,4N a cada tubo, homogenizando-se bem com agitador deixando-se em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente;

⇒ efetuou-se as leituras espectrofotométricas comprimento de onda de 505 nm, Traçando-se duas curvas distintas de calibração, uma para a aspartato-aminotransferase e outra para a alanina-aminotransferase, correlacionado-se as transmitâncias em papel monolog, com as concentrações das respectivas enzimas, de acordo com a tabela abaixo:

ENZIMAS	TUBOS				
	"1"	"2"	"3"	"4"	"5"
ALT (U.mL ⁻¹)	zero	28	57	97	150
AST (U.mL ⁻¹)	zero	24	61	114	190

⇒ Uma unidade correspondeu à formação de material cromogênico equivalente à um micrograma de piruvato nas condições do teste. As unidades obtidas corresponderam às unidades espectrofotométricas convencionais (Karmen) e foram adequadamente convertidas em unidades internacionais (micromoles.minuto⁻¹) através da multiplicação pelo fator 0,482.

6.10. DETERMINAÇÃO DE BILIRRUBINA TOTAL E DIRETA NO

SORO (SIMS & HORN, 1958)

⁴⁵ Pipeta de vidro de 10 mL in 1/10 - PYREX® - nº 7085

6.10.1. PRINCÍPIO

⇒ A bilirrubina IX α é dosada por diazotização e formação de azobilirrubina vermelha com espectrometria de absorção máxima em 525 nm. A bilirrubina direta é dosada em meio aquoso, enquanto que a total é determinada por ação de potente solubilizador de ação catalizadora (benzoato de cafeína tamponado).

6.10.2. TÉCNICA PARA A DETERMINAÇÃO DE BILIRRUBINA TOTAL E DIRETA A PARTIR DE AMOSTRAS DE SORO DAS UNIDADES EXPERIMENTAIS

⇒ Utilizou-se a técnica micro de determinação de bilirrubina total e direta.

⇒ Rotulou-se 3 tubos de ensaio de 5mL limpos e secos, sendo que o primeiro foi denominado "BRANCO", o segundo "BILIRRUBINA DIRETA"; e o terceiro "BILIRRUBINA TOTAL";

⇒ aos tubos de nº 1 e nº 2 pipetou-se 1,8 mL de água destilada;

⇒ ao tubo de nº 3, pipetou-se 1,8 mL do acelerador⁴⁶;

⁴⁶ Reagente de nº 1 - Bilirrubina - LABTEST - Categoria nº 31

➔ ao tubo de nº 1 adicionou-se o reagente sulfanílico⁴⁷, pipetando-se 0,15 mL;

➔ aos tubos de nº 2 e 3 adicionou-se o diazo reagente pipetando-se 0,15 mL. Este reagente foi preparado incorporando-se 1 gota de nitrito de sódio⁴⁸ a 1,5 mL de reagente sulfanílico em um tubo de ensaio seco e limpo de 5 mL, misturando-se adequadamente com auxílio de um agitador, sendo utilizado extemporaneamente no dia da determinação;

➔ finalmente três tubos adicionou-se a amostra de soro, pipetando-se a alíquota de 0,05 mL, misturando-se com auxílio de um agitador. Deixou-se em repouso à temperatura ambiente durante 5 minutos;

➔ determinou-se as absorbâncias da bilirrubina IX α total em 525 nm acertando o zero com o branco. Os resultados foram obtidos em mg.100mL⁻¹ para a bilirrubina total utilizando-se o fator de calibração micro⁴⁹.

6.10.3. OBTENÇÃO DO FATOR DE CALIBRAÇÃO PARA A TÉCNICA MICRO DE DETERMINAÇÃO DE BILIRRUBINA TOTAL E DIRETA

⁴⁷ Reagente de nº 2 - Bilirrubina - LABTEST - Categoria nº 31

⁴⁸ Reagente de nº 3 - Bilirrubina - LABTEST - Categoria nº 31

⁴⁹ Bilirrubina Calibração - LABTEST - Categoria nº 32

-
- Rotulou-se quatro tubos de ensaio limpos e secos, sendo o primeiro denominado "BRANCO" e os três restantes denominados tubos "PADRÃO";

 - nos quatro tubos, pipetou-se 1,8 mL do acelerador;

 - no tubo de ensaio de nº 1 ("BRANCO"), adicionou-se o reagente sulfanílico pipetando-se 0,15 mL, misturando-se bem com auxílio de um agitador;

 - aos tubos de nº 2, 3 e 4 ("PADRÃO") adicionou-se o diazo reagente, pipetando-se 0,15 mL. Este reagente foi preparado incorporando-se 1 gota de nitrito de sódio a 1,5 mL de reagente sulfanílico em um tubo de ensaio seco e limpo de 5 ml, misturando-se adequadamente com auxílio de um agitador, sendo utilizado extemporaneamente no dia da determinação;

 - finalmente adicionou-se aos quatro tubos de ensaio o padrão de bilirrubina, pipetando-se 0,05mL, misturando-se bem com o auxílio de um agitador e deixando-se em repouso à temperatura ambiente por 5 minutos.

 - O reagente padrão de bilirrubina foi preparado, transferindo-se o conteúdo da ampola (diluyente) para um tubo de ensaio limpo e seco, onde pipetou-se 3,0 mL deste e adicionou-se ao frasco de padrão de bilirrubina, misturando-se homogeneamente com o auxílio de um agitador. Deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 5 minutos agitando-se novamente para posterior

utilização. Durante a preparação e utilização do reagente padrão, conservou-se o frasco contendo bilirrubina protegido da luz. A concentração final do padrão foi igual a $10\text{mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$;

⇒ As absorbâncias dos padrões foram determinadas em comprimento de onda de 405 nm acertando o zero com branco, sendo dosados em triplicata, para a obtenção de um fator adequado, utilizando-se a média das absorbâncias para o cálculo do fator de calibração;

⇒ calculou-se o fator de calibração de acordo com as fórmulas abaixo:

10

$$\text{Fator de Calibração} = \frac{\text{Concentração do padrão}}{\text{Absorbância padrão (média)}}$$

$$\text{Concentração do teste (mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}) = \text{Absorbância do teste} \times \text{Fator}$$

⇒ As reações foram lineares até $45\text{ mg}\cdot 100\text{mL}^{-1}$. Nas amostras onde valores maiores eram obtidos, usou-se volumes menores de soro, aumentando-se proporcionalmente somente os volumes de água e acelerador. Os volumes do reagente sulfanílico e diazo permaneceram o mesmo. Para isto, utilizou-se 0,04 mL de soro para 1,81 mL de água destilada e 1,81 mL de acelerador. Após multiplicou-se o resultado por 1,5.

6.11. CÁLCULO DA ATIVIDADE HEPATOPROTETORA (Anand *et al.*, 1992)

➤ A atividade hepatoprotetora foi calculada e expressa em porcentagem de proteção (X), para todos os parâmetros bioquímicos, de acordo com a fórmula abaixo:

$$1 - \frac{T - V}{C - V} \times 100$$

T : EHE da planta + CCl₄

C : somente o CCl₄

V : somente o veículo utilizado para o CCl₄

6.12. PROCEDIMENTOS TÉCNICOS PARA CONFEÇÃO DE PREPARADOS HISTOLÓGICOS A PARTIR DE ESPÉCIMES HEPÁTICOS

➤ Os animais mortos foram tricotomizados na região abdominal, e a região desinfetada com gaze estéril⁵⁰ umedecida com PVPI⁵¹ com seu teor de iodo a 10%. Uma vez preparado o animal, foi realizada a extrusão dos lóbulos hepáticos, após incisão ventral mediana de 3 a 4 cm, a partir da apófise

⁵⁰ Compressa de gaze hidrófila - CREMER - Modelo Íris

⁵¹ Polivinil-pirrolidone Iodine - Povidine tópico - Darrow Laboratórios S.A.

xifóide do esterno, efetuando-se através da compressão da região abdominal, a extrusão dos lóbulos hepáticos, sendo o lobo esquerdo principal seccionado e fixado em formol⁵² a 10% v/v. Os fragmentos foram incluídos em parafina e secções de 5 micra de espessura foram corados com hematoxilina e eosina.

6.12.1. MICROSCOPIA

⇒ As lâminas montadas foram observadas em microscópio óptico, onde foram fotografadas⁵³.

6.13. CRITÉRIOS PARA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA (FIGUEIREDO *et al.*, 1992)

⇒ Os critérios para avaliação histopatológica foram: esteatose, necrose e tumefação turva do hepatócito, segundo a seguinte graduação, através de leitura microscópica semi-quantitativa:

0 = ausente
+ = leve
++ = moderada
+++ = intensa

⁵² Formaldeído para análise - RESEARCH BECTO CHEMICAL

⁵³ Fotomicroscópio - NIKON - Modelo Alphaphot - 2, YSZ

6.14. ANÁLISE ESTATÍSTICA

➤ Previamente à realização da parte experimental, consultou-se o Gerenciador Estatístico **Jandel Sigma Stat 2.0**⁵⁴, que revelou o método de **One Way ANOVA** como o mais adequado para o tratamento estatístico deste estudo. Posteriormente os resultados obtidos (valores bioquímicos) foram submetidos à análise de variância, com auxílio de outro programa de computador (**JUMP**)⁵⁵.

⁵⁴ Programa Sigma Stat 2.0® - Licença nº B05907 - for WINDOWS® v. 3.1.4.

⁵⁵ Programa JUMP® - Licença nº 40-2301 - for WINDOWS v. 3.1.4.

7. RESULTADOS

7.1. RESULTADOS - ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Figura 1 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

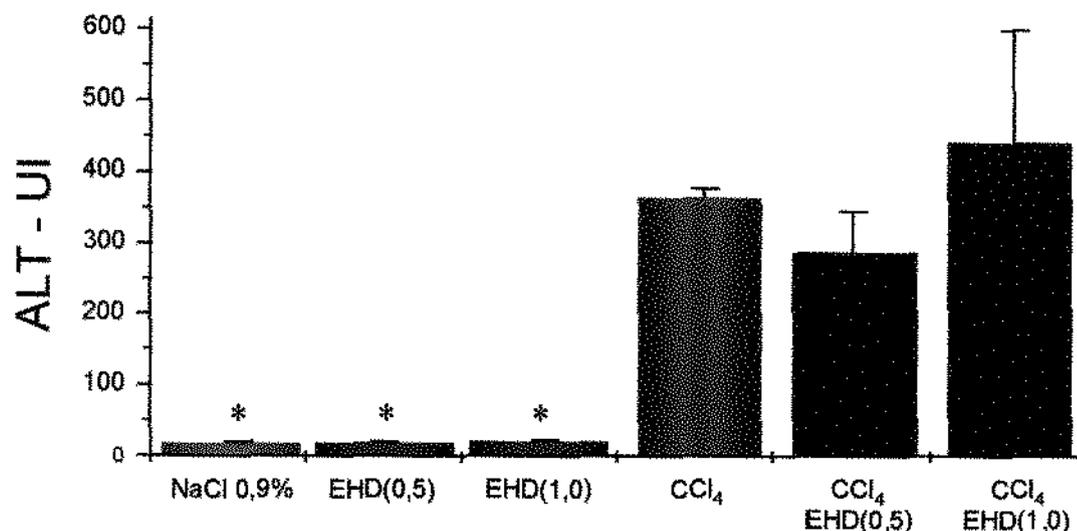


Tabela 1 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase^a (ALT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	ALT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	19,13±1,26 ^{g*}	-
Controle (EHE)	0,5 ^c	6	19,82±0,54 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	21,48±0,84 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	367±12,01	-
CCl_4 +EHE	0,5 ^c	8	289,53±57,35	22,4
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	8	446,31±156,44	-22,7

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(5,38)} = 6,886$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 2 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

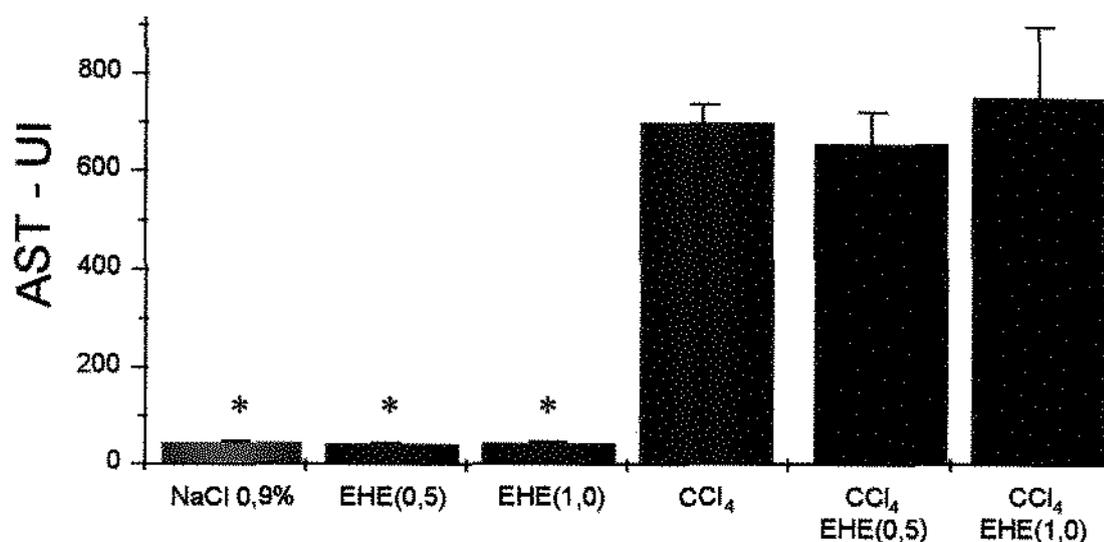


Tabela 2 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase^a (AST) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	AST ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	46,75±0,96 ^{g*}	-
Controle (EHE)	0,5 ^c	6	43,28±1,12 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	45,05±1,03 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	704,5±35,36	-
CCl_4 +EHE	0,5 ^c	8	661,35±64,68	6,56
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	8	758,54±145,79	-8,22

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(5,38)} = 24,57$ p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 3 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

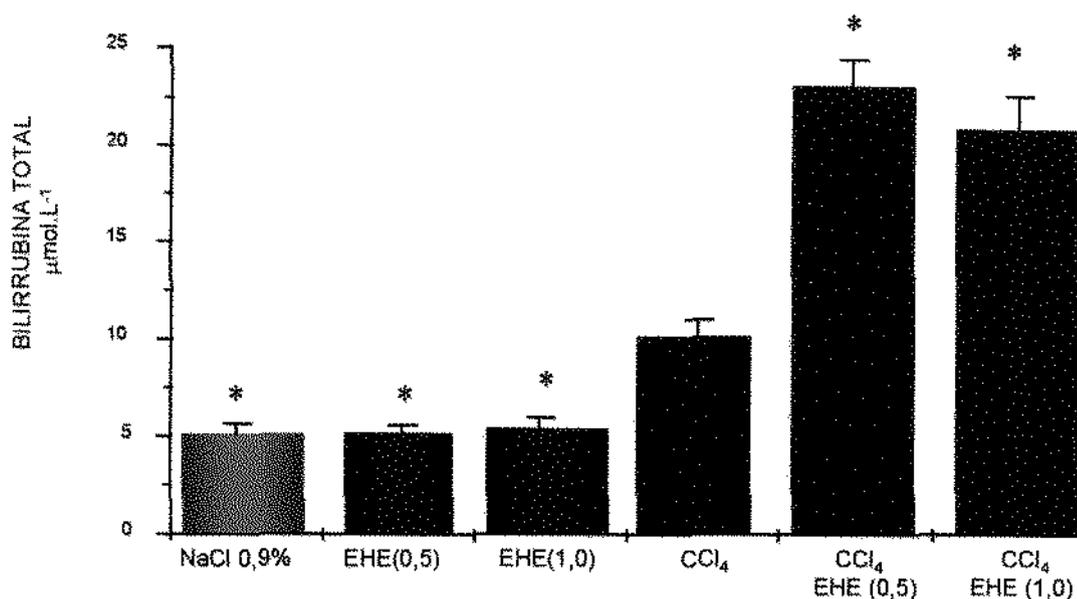


Tabela 3 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total^a (BILTOT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n	BILTOT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTECTORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	5,19±0,47 ^{g*}	-
Controle (EHE)	0,5 ^c	6	5,27±0,33 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	5,5±0,52 ^{g*}	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	10,24±0,81	-
CCl ₄ +EHE	0,5 ^c	8	23,27±1,3 ^{g*}	-258
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	21,04±1,65 ^{g*}	-213

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμ.mol.L⁻¹.

^gDifere do controle CCl₄.

^h%.

*ANOVA F_(5,36) = 55,98 p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 4 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

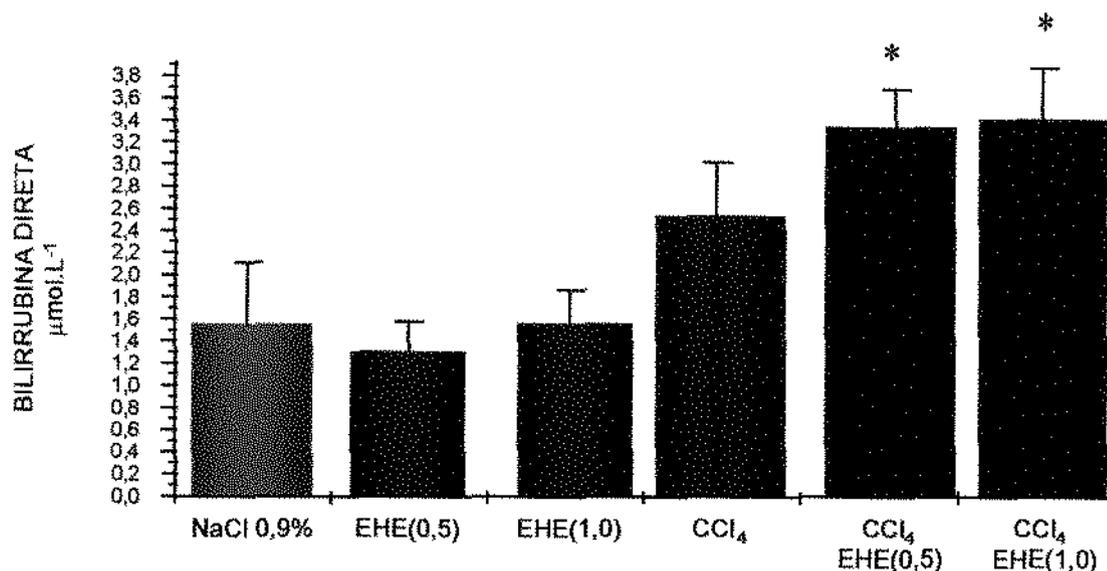


Tabela 4 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum paniculatum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta^a (BILDIR) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	BILDIR ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	1,57±0,54	-
Controle (EHE)	0,5 ^c	6	1,31±0,26	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	1,58±0,29	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	2,56±0,47	-
CCl ₄ +EHE	0,5 ^c	8	3,37±0,34 ^{g*}	-81,81
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	3,45±0,45 ^{g*}	-101,01

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμ.mol.L⁻¹.

^gDifere do controle CCl₄.

^h%.

*ANOVA F_(5,36) = 7,244 p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 5 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

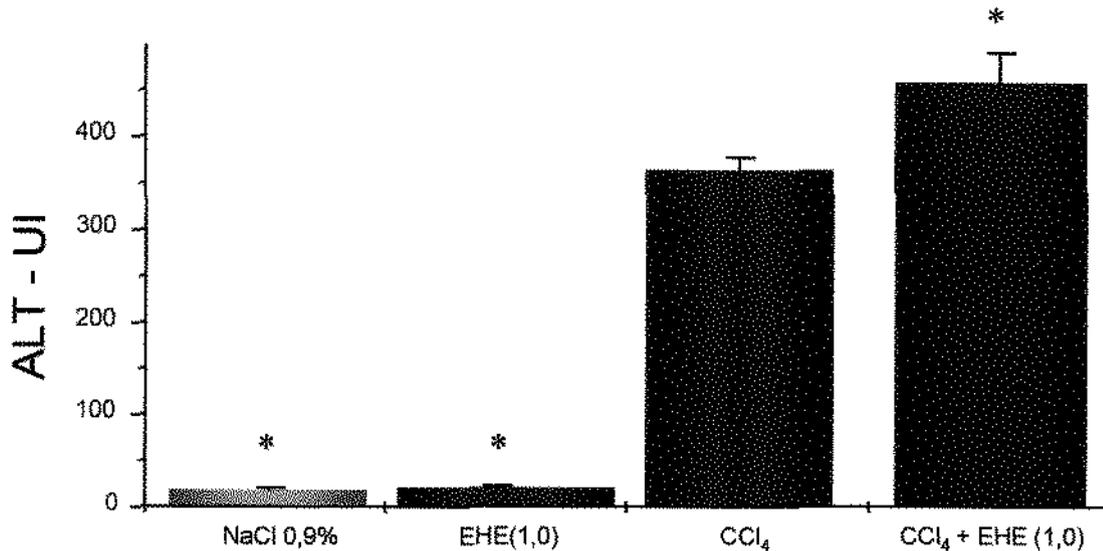


Tabela 5 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum variable* M. L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase^a (ALT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	ALT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	19,13±1,26 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	21,85±0,6 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	367±12,01	-
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	7	462,14±31,3 ^{g*}	-27,35

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,25)} = 192,79$ p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 6 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

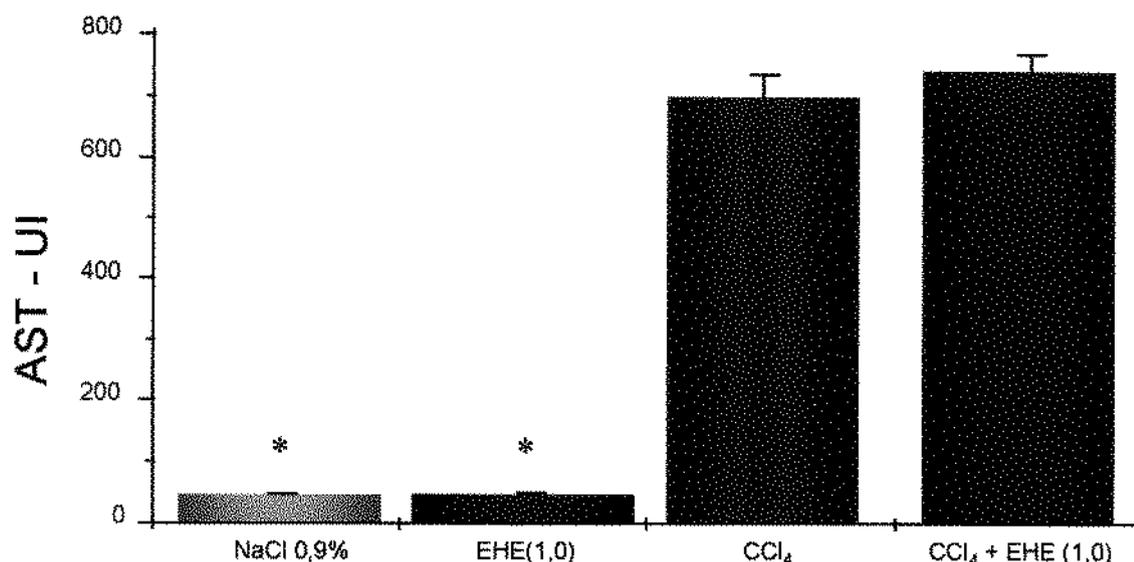


Tabela 6 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase^a (AST) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	AST ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0	8	46,75±0,96 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	48,5±0,62 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	704,5±35,36	-
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	7	749,43±25,01	-6,83

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,25)} = 288,46$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 7 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

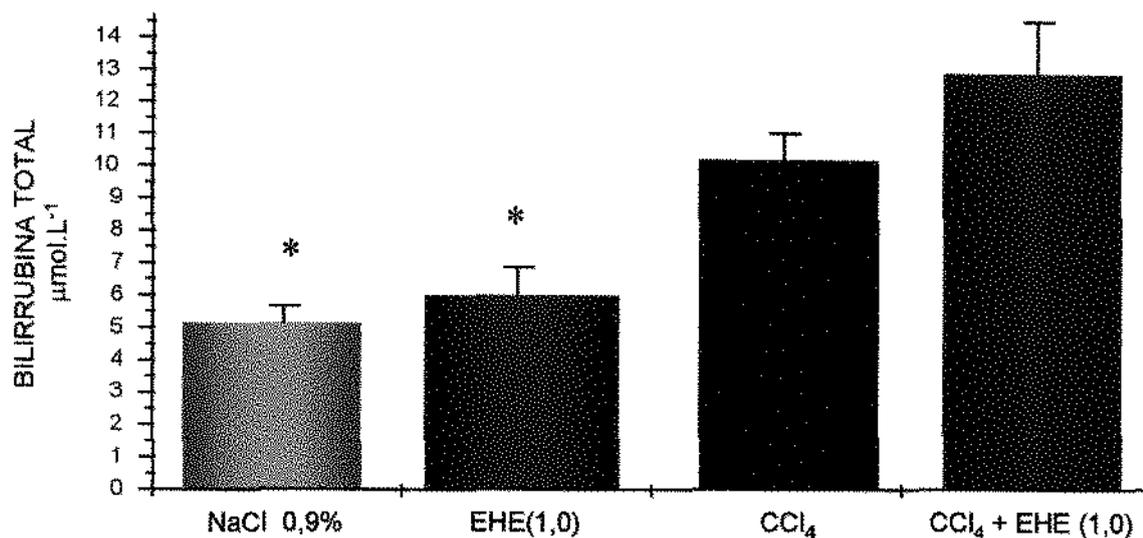


Tabela 7 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total^a (BILTOT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.^h

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	BILTOT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	5,19±0,47 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	6,03±,84 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	10,24±0,81	-
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	8	12,98±1,61	-54,2

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fµmol.L⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,24)} = 10,53$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnet $p < 0,05$.

Figura 8 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

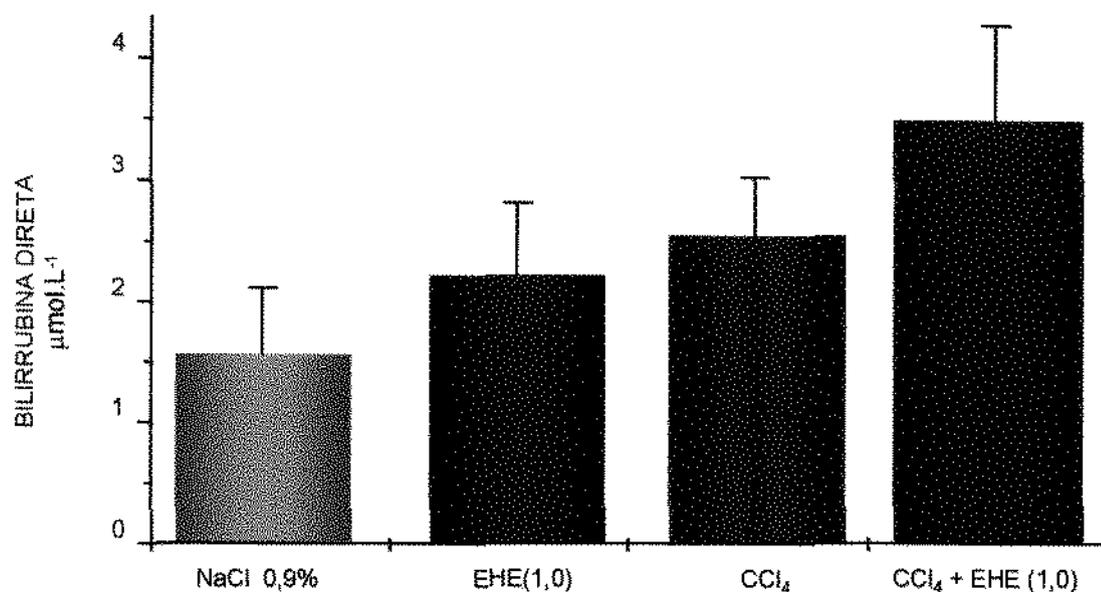


Tabela 8 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum variable* M. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta^a (BILDIR) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	BILDIR ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^g
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	1,57±0,54	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	2,23±0,59	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	2,56±0,47	-
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	3,51±0,78	-95,9

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμmol.L⁻¹.

^g%.

*ANOVA $F_{(3,24)} = 2,699$ $p < 0,0682$.

Figura 9 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

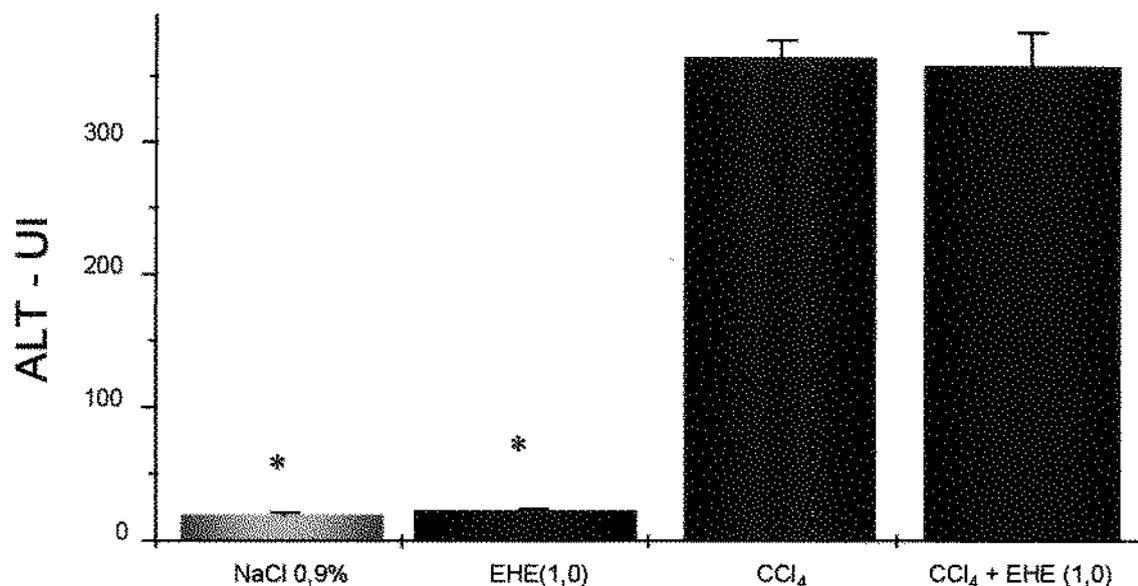


Tabela 9 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase^a (ALT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	ALT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTECTORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	19,13±1,26 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	23±0,52 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	367±12,02	-
$\text{CCl}_4 + \text{EHE}$	1,0 ^c	8	361±24,43	1,72

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,26)} = 183,23$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 10 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

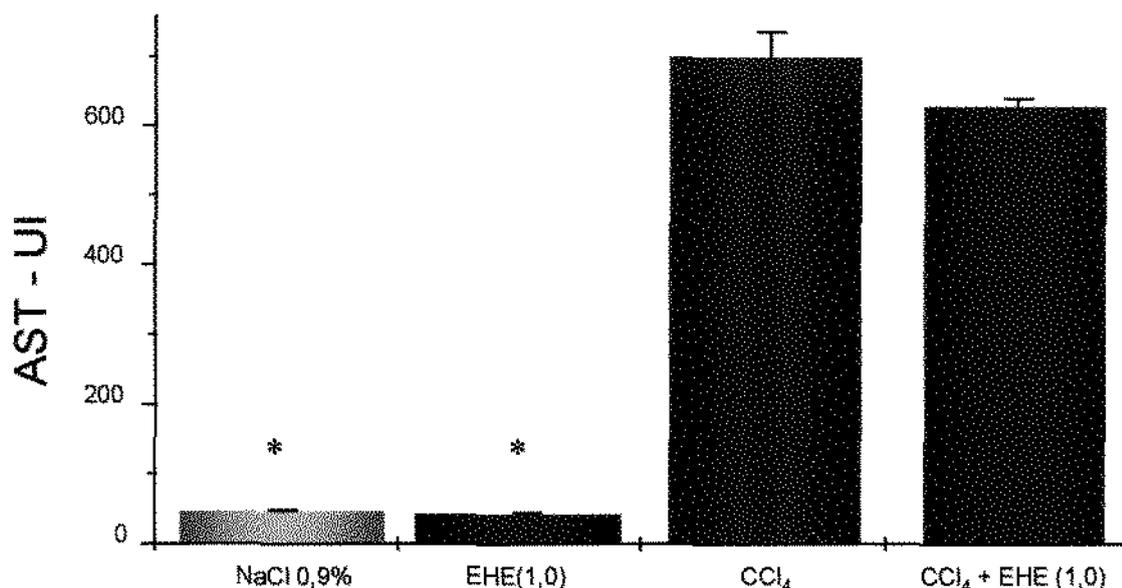


Tabela 10 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase^a (AST) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^a	AST ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	46,75±0,96 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	43,28±0,63 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	704,5±35,36	-
CCl_4 +EHE	1,0 ^c	8	634,38±17,91	10,66

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,26)} = 288,21$ p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 11 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

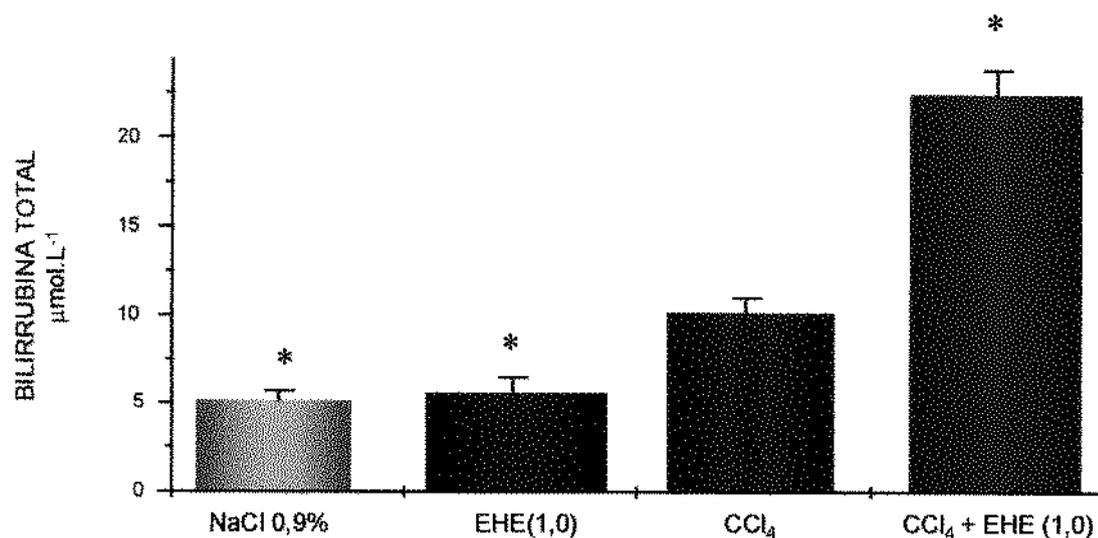


Tabela 11 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total^a (BILTOT) em ratos e no cálculo da atividade hepatoprotetora.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	BILTOT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	5,19±0,47 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	5,61±1,87 ^{g*}	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	10,24±0,81	-
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	22,60±1,35 ^{g*}	-293,34

^a Os valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^b mL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^c g.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^d mL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^e Número de amostras experimentais analisadas.

^f μmol.L⁻¹.

^g Difere do controle CCl₄.

^h %.

*ANOVA $F_{(3,24)} = 67,70$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 12 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

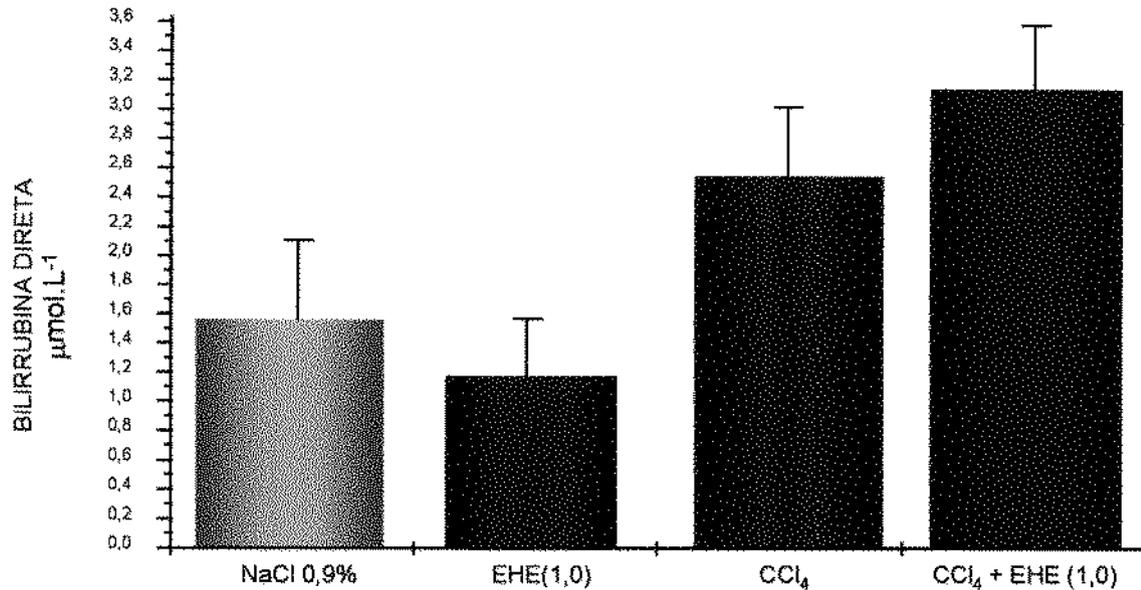


Tabela 12 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum nigrum* L. 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta^a (BILDIR) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^o	BILDIR ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^g
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	1,57±0,54	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	1,18±0,39	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	2,56±0,47	-
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	3,17±0,43	-60

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμmol.L⁻¹.

^g%.

*ANOVA F_(3,24) = 6,049 p<0,0032.

Figura 13 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase em ratos.

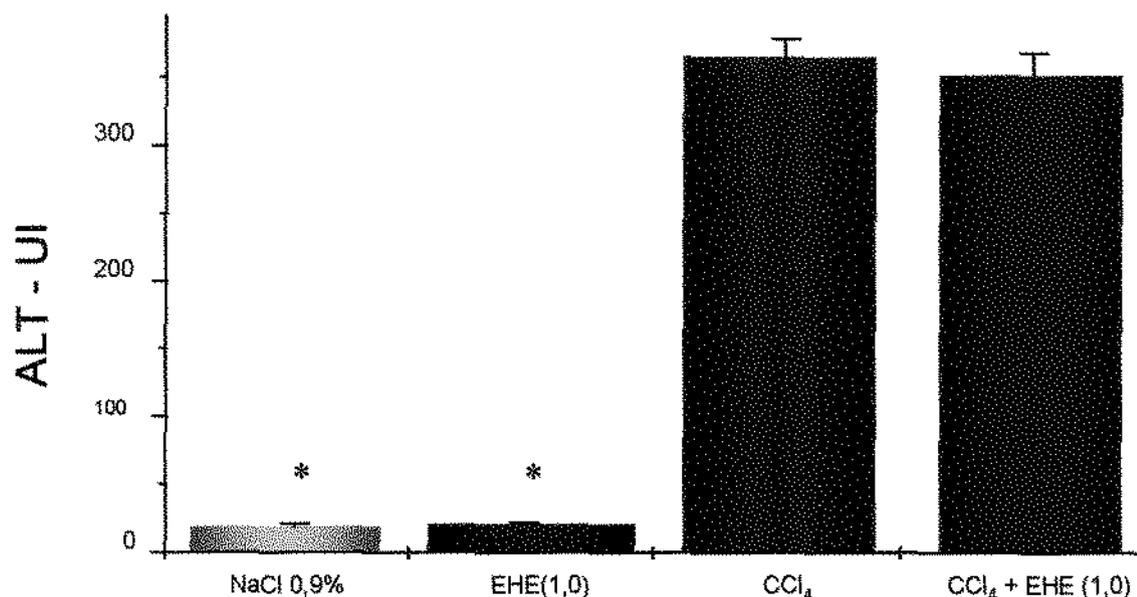


Tabela 13 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de alanina aminotransferase^a (ALT) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^e	ALT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	8	19,13±1,26 ^{g*}	-
Controle(EHE)	1,0 ^c	6	20,88±0,78 ^{g*}	-
CCl_4	1,5 ^d	8	367±12,01	-
$\text{CCl}_4 + \text{EHE}$	1,0 ^c	6	354,5±15,4	3,59

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

*ANOVA $F_{(3,24)} = 427,56$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 14 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase em ratos.

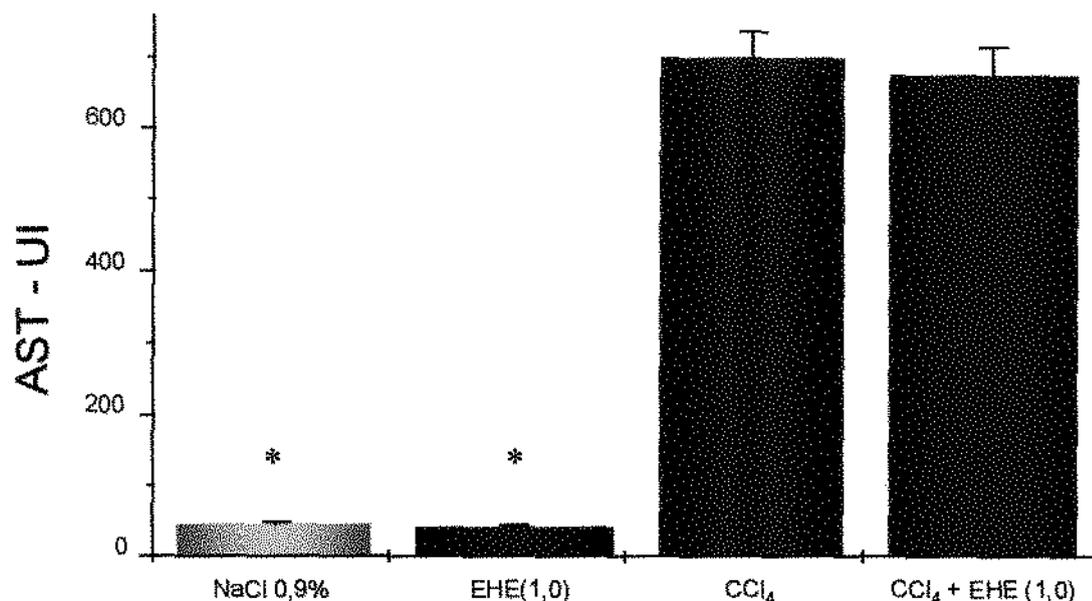


Tabela 14 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de aspartato aminotransferase^a (AST) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^o	AST ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0	8	46,75±0,96 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0	6	42,82±0,56 ^{g*}	-
CCl_4	1,5	8	704,5±35,4	-
CCl_4 +EHE	1,0	6	680,67±37,87	3,62

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fUnidade internacional (UI) = 1 μmol de piruvato.mL⁻¹.min⁻¹.

^gDifere do controle CCl_4 .

^h%.

ANOVA $F_{(3,24)} = 208,81$ $p < 0,0001$. Teste de Dunnett $p < 0,05$.

Figura 15 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , nos níveis séricos de bilirrubina total em ratos.

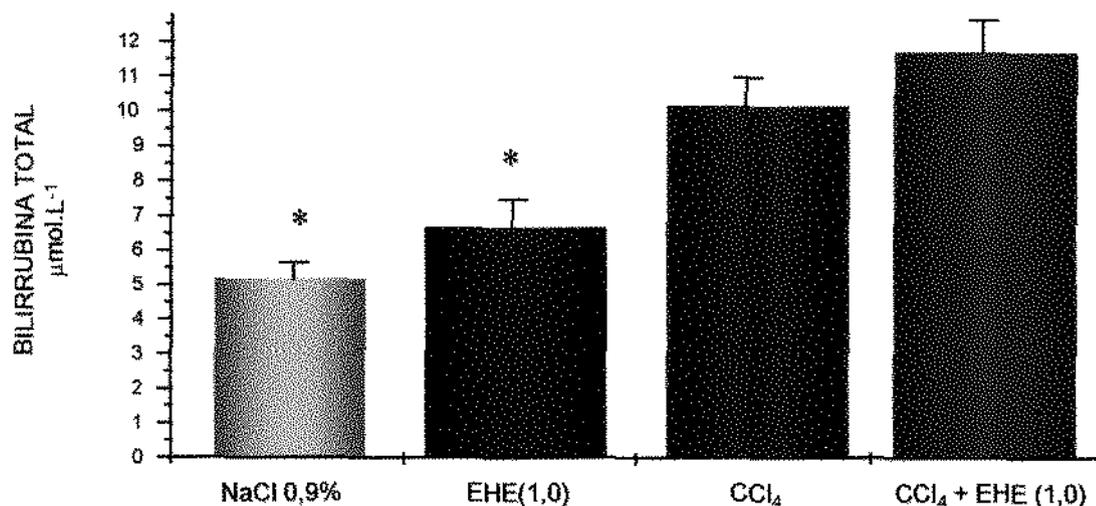


Tabela 15 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina total^a (BILTOT) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^a	BILTOT ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	5,19±0,47 ^{g*}	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	6,7±0,78 ^{g*}	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	10,24±0,81	-
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	11,84±0,92	-31

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμmol.L⁻¹.

^gDifere do controle CCl₄.

^h%.

*ANOVA F_(3,24) = 14,10 p<0,0001. Teste de Dunnett p<0,05.

Figura 16 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o extrato bruto hidroalcoólico evaporado (EHE) de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta em ratos.

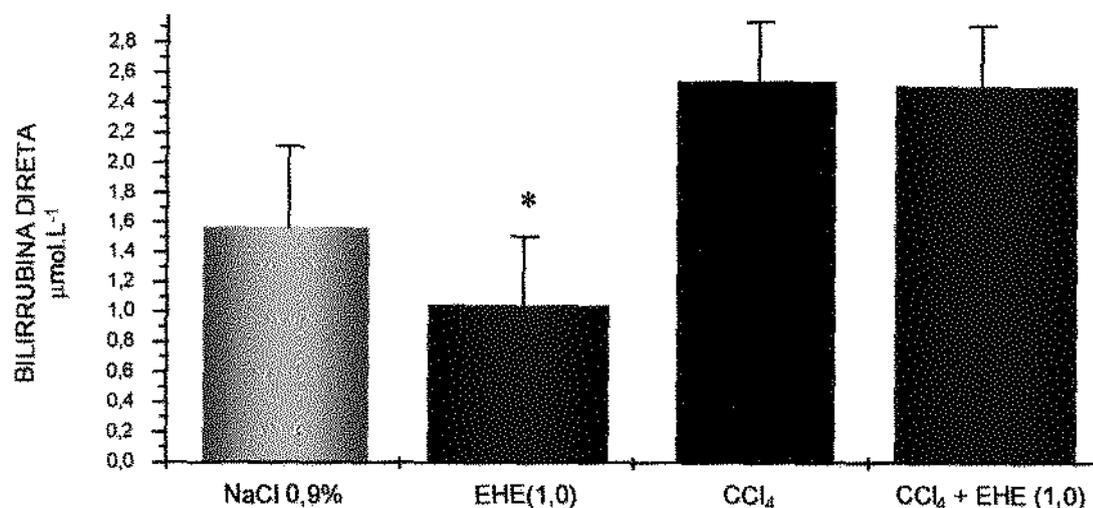


Tabela 16 - Efeito do pós-tratamento intragástrico (i.g.) com o EHE de *Solanum cernuum* Vellozo 6, 12 e 18 h após a indução de lesões hepáticas pelo CCl_4 , i.g., nos níveis séricos de bilirrubina direta^a (BILDIR) em ratos.

TRATAMENTO	DOSE	n ^o	BILDIR ^f	ATIVIDADE HEPATOPROTETORA ^h
Controle (veículo)	3,0 ^b	6	1,57±0,54	-
Controle (EHE)	1,0 ^c	6	1,05±0,67 ^{g*}	-
CCl ₄	1,5 ^d	8	2,56±0,47	-
CCl ₄ +EHE	1,0 ^c	8	2,41±0,33	15,15

^aOs valores estão representados por sua média ± E.P.M. para cada grupo.

^bmL.kg⁻¹ de peso corporal (NaCl 0,9%).

^cg.kg⁻¹ de peso corporal (EHEs).

^dmL.kg⁻¹ em óleo de oliva a 40%, v/v.

^eNúmero de amostras experimentais analisadas.

^fμmol.L⁻¹.

^gDifere do controle CCl₄.

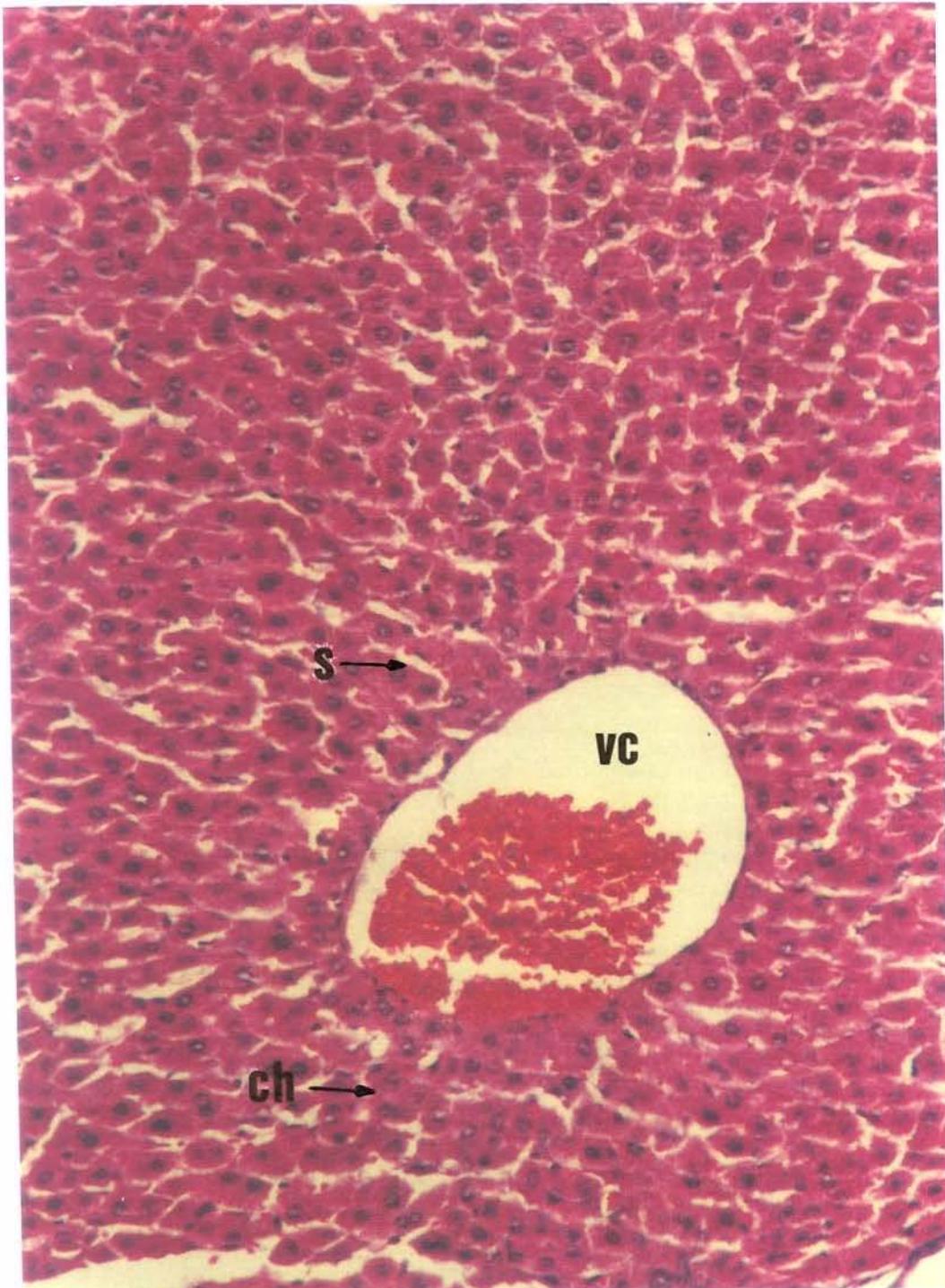
^h%.

*ANOVA F_(3,24) = 2,938 p<0,0537. Teste de Dunnett p <0,05.

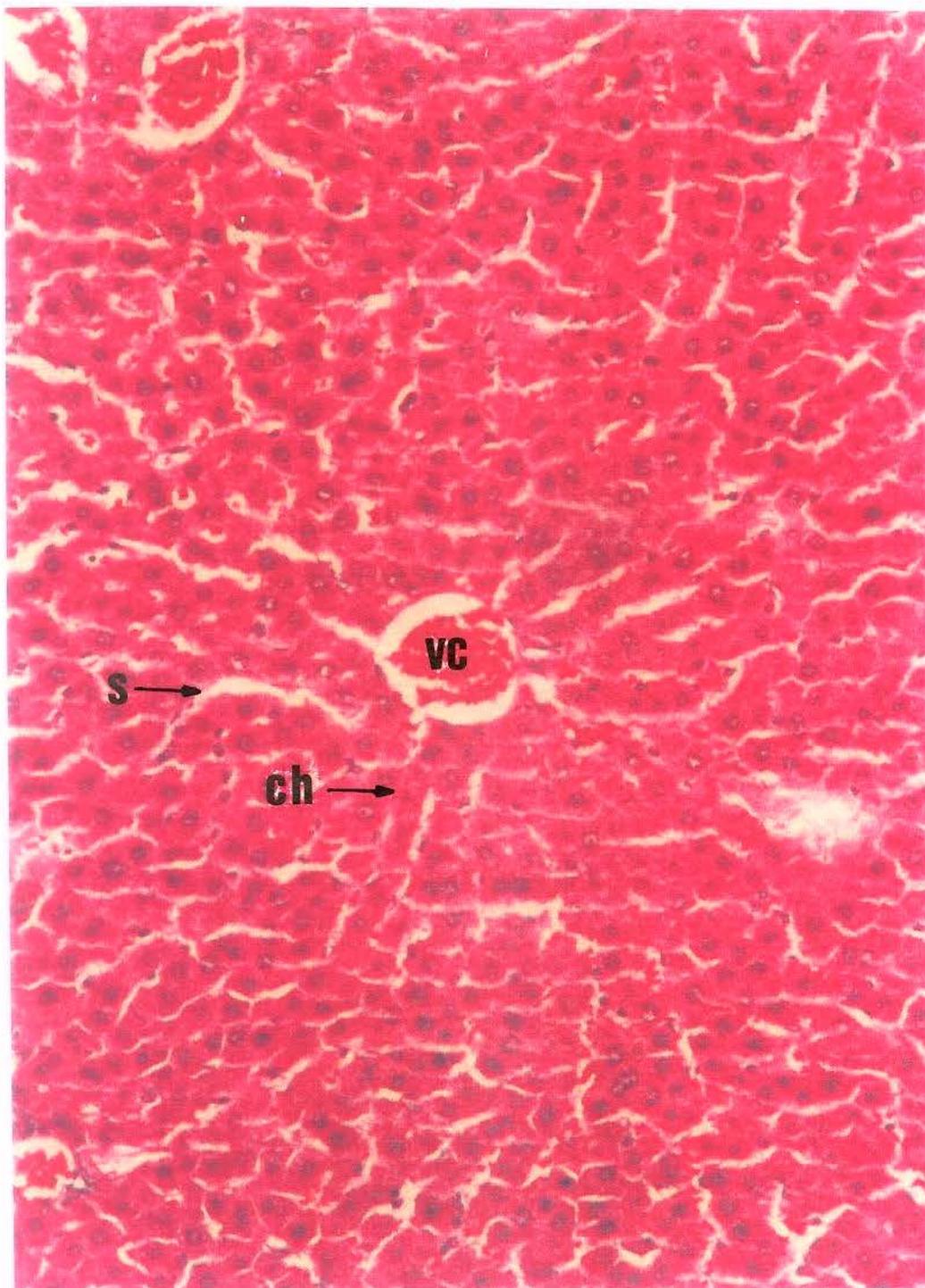
7.2. RESULTADOS - ANÁLISES QUÍMICAS

EXTRATOS	ALCALÓIDES	FLAVONÓIDES	SAPONINAS	TANINOS
<i>S. paniculatum</i> L.	+	+	+	+
<i>S. variabile</i> M.	+	+	+	+
<i>S. nigrum</i> L.	+	+	+	+
<i>S. cernuum</i> V.	+	+	+	-

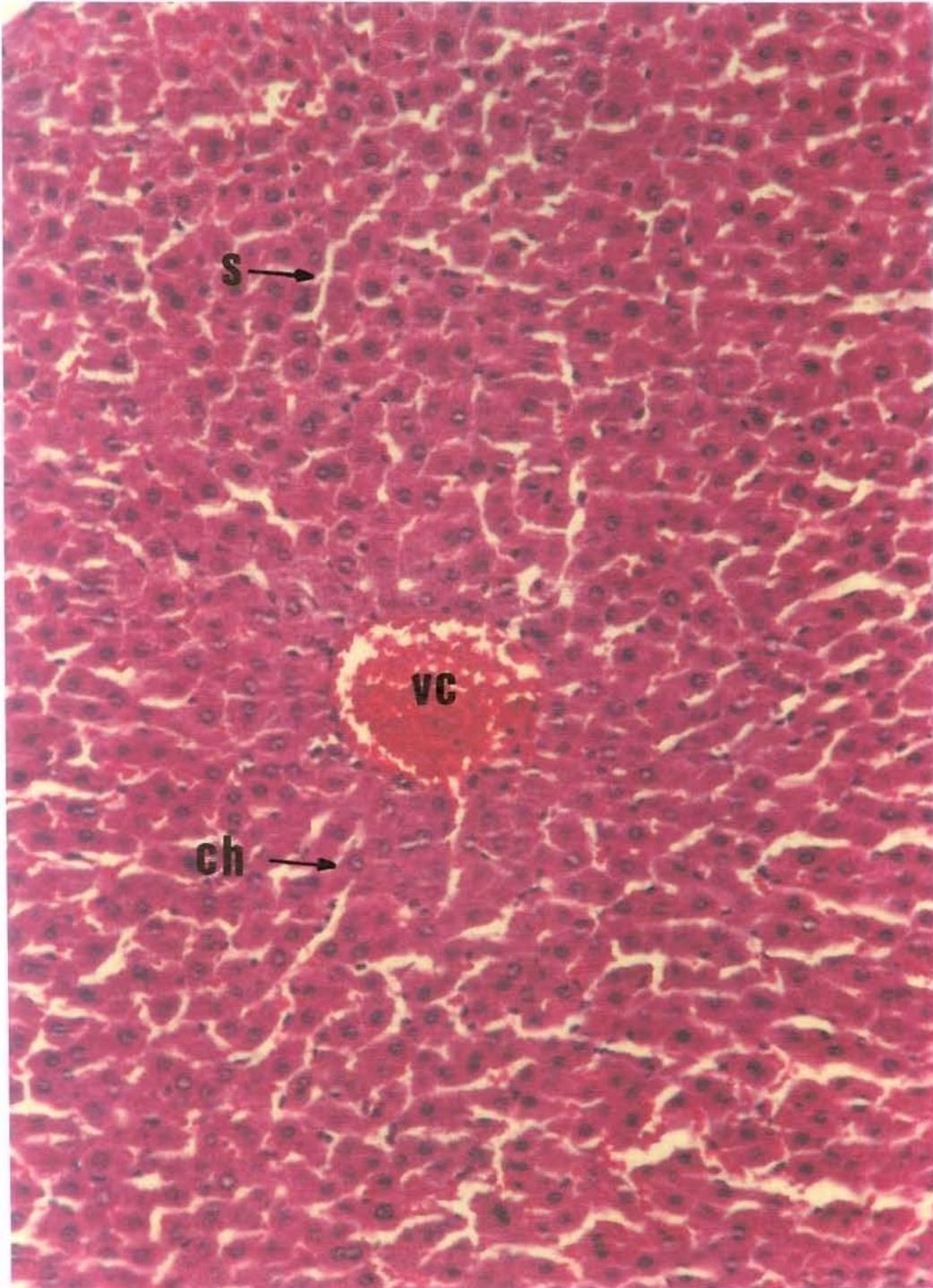
TABELA 17 - Resultados da análise química qualitativa dos extratos hidroalcoólicos evaporados obtidos a partir das partes aéreas de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V.



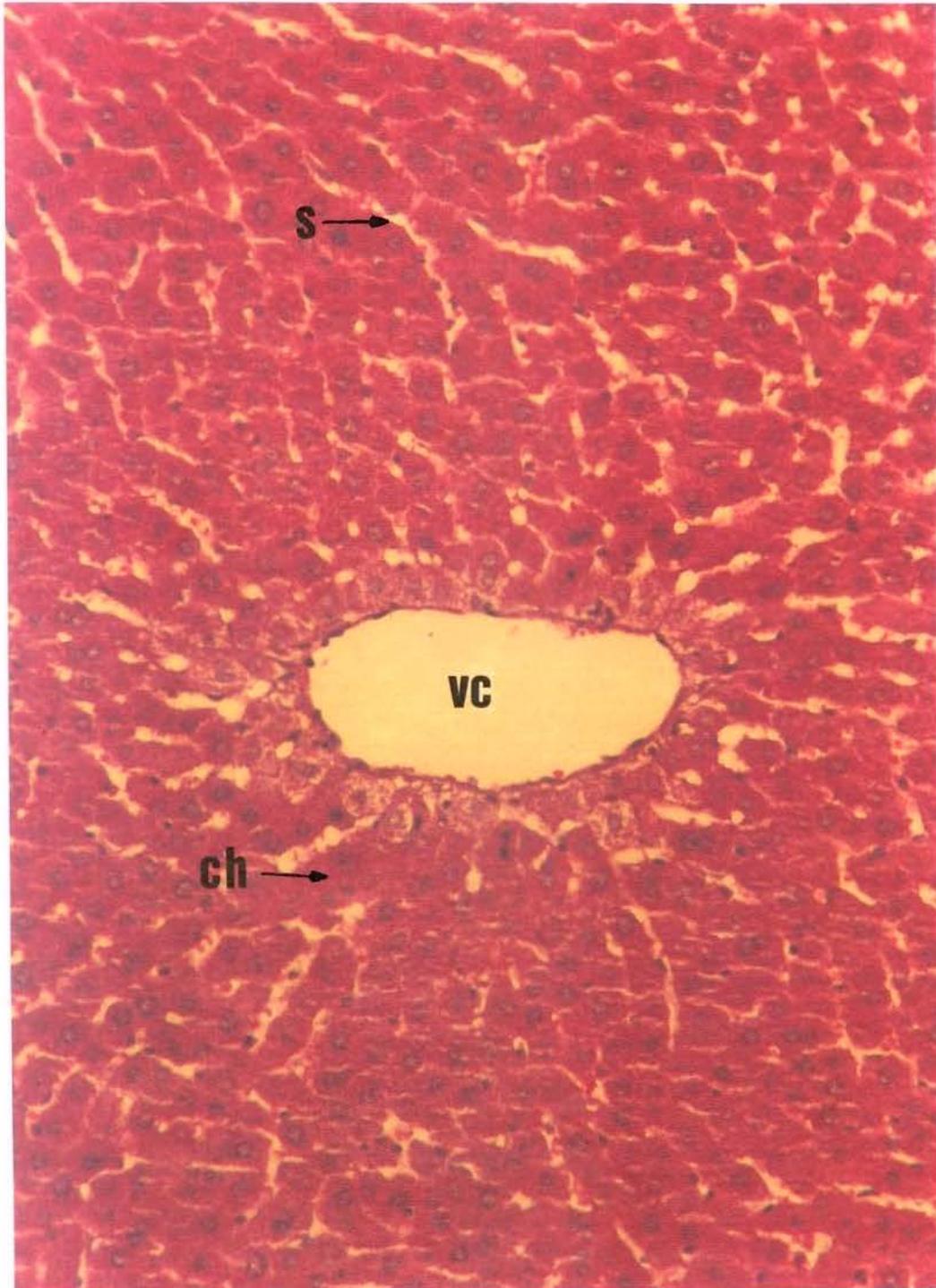
Lâmina 1 - Grupo controle (veículo NaCl 0,9%). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas (ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



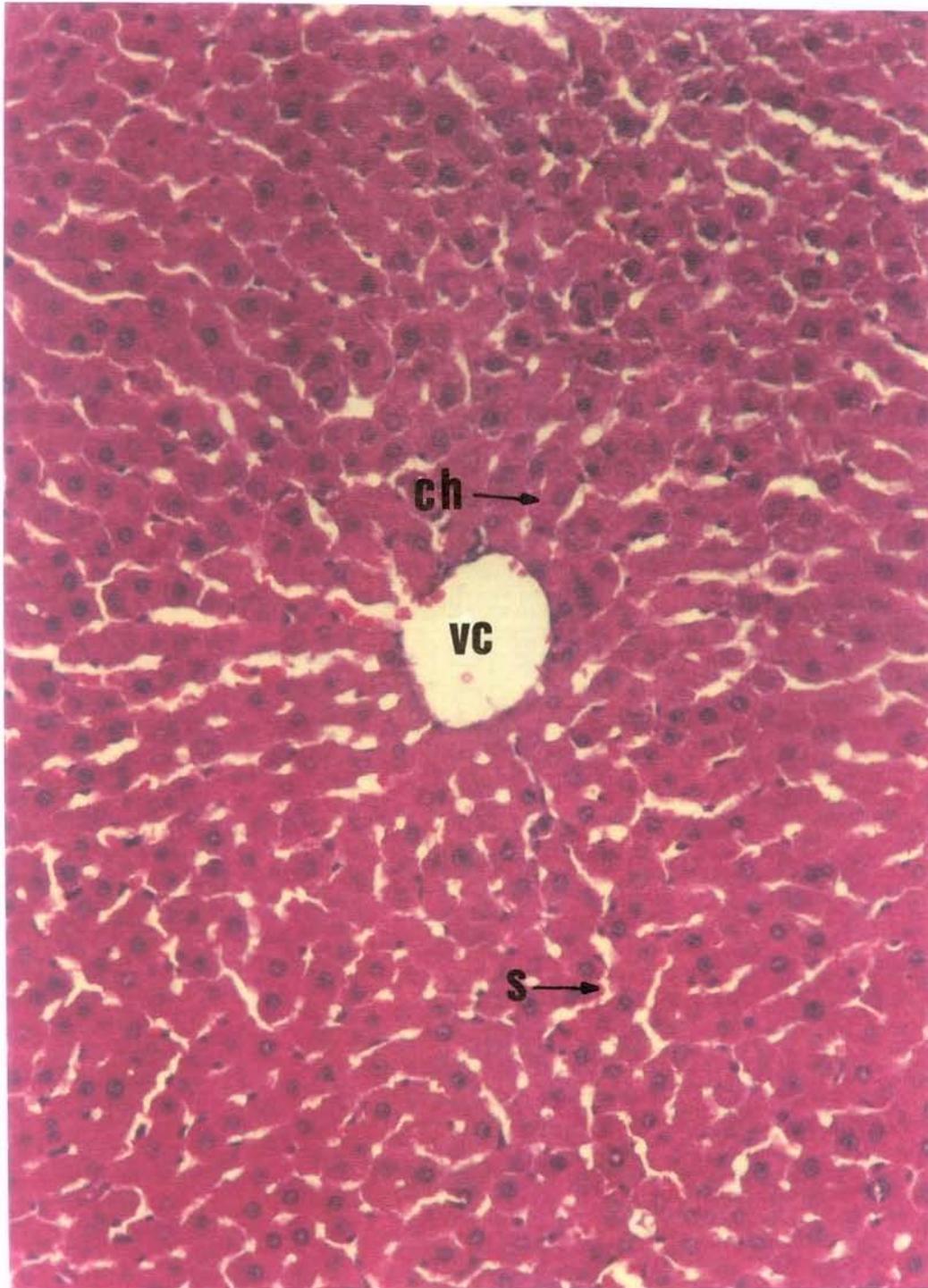
Lâmina 2 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas(ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



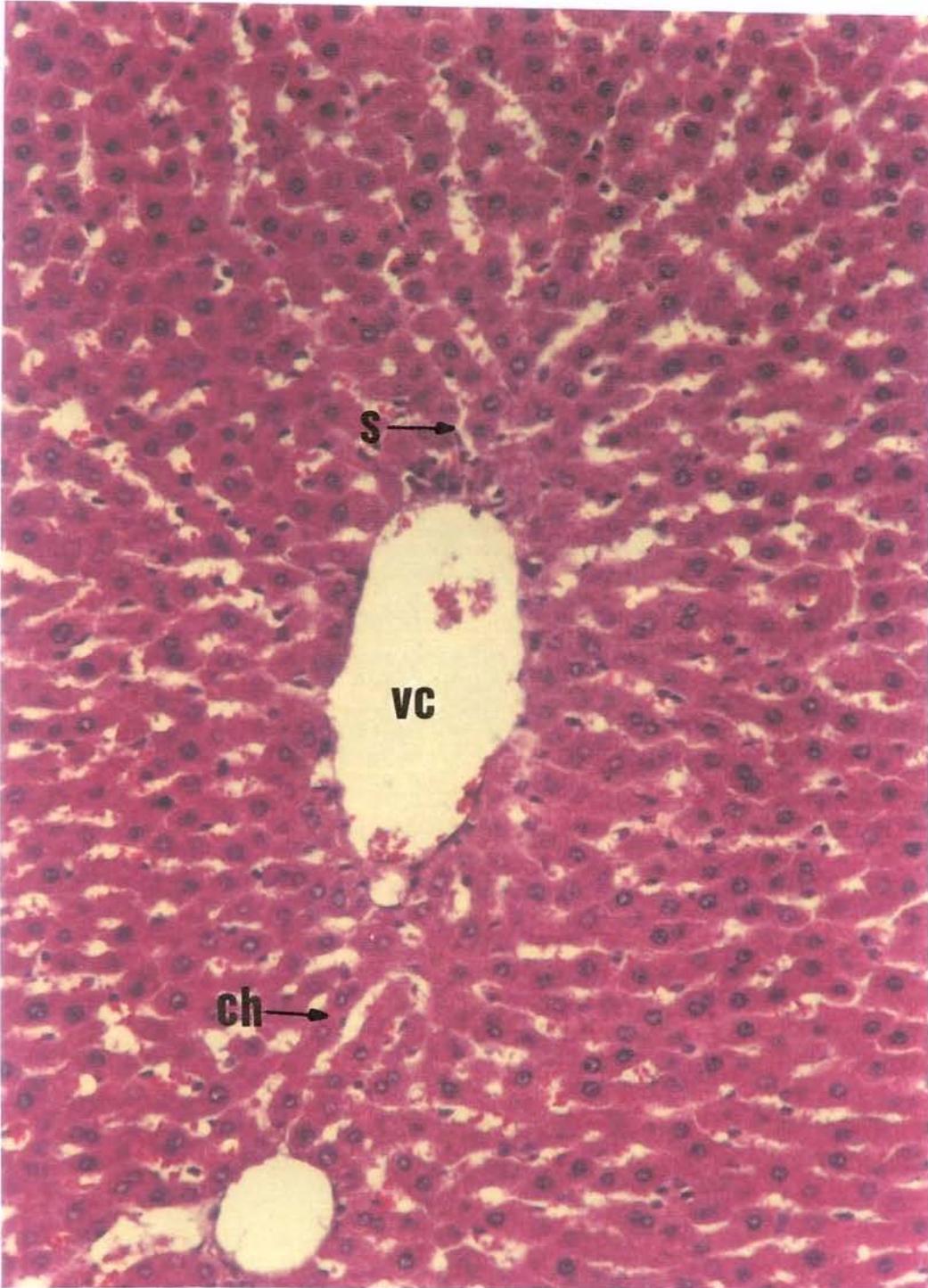
Lâmina 3 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas (ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



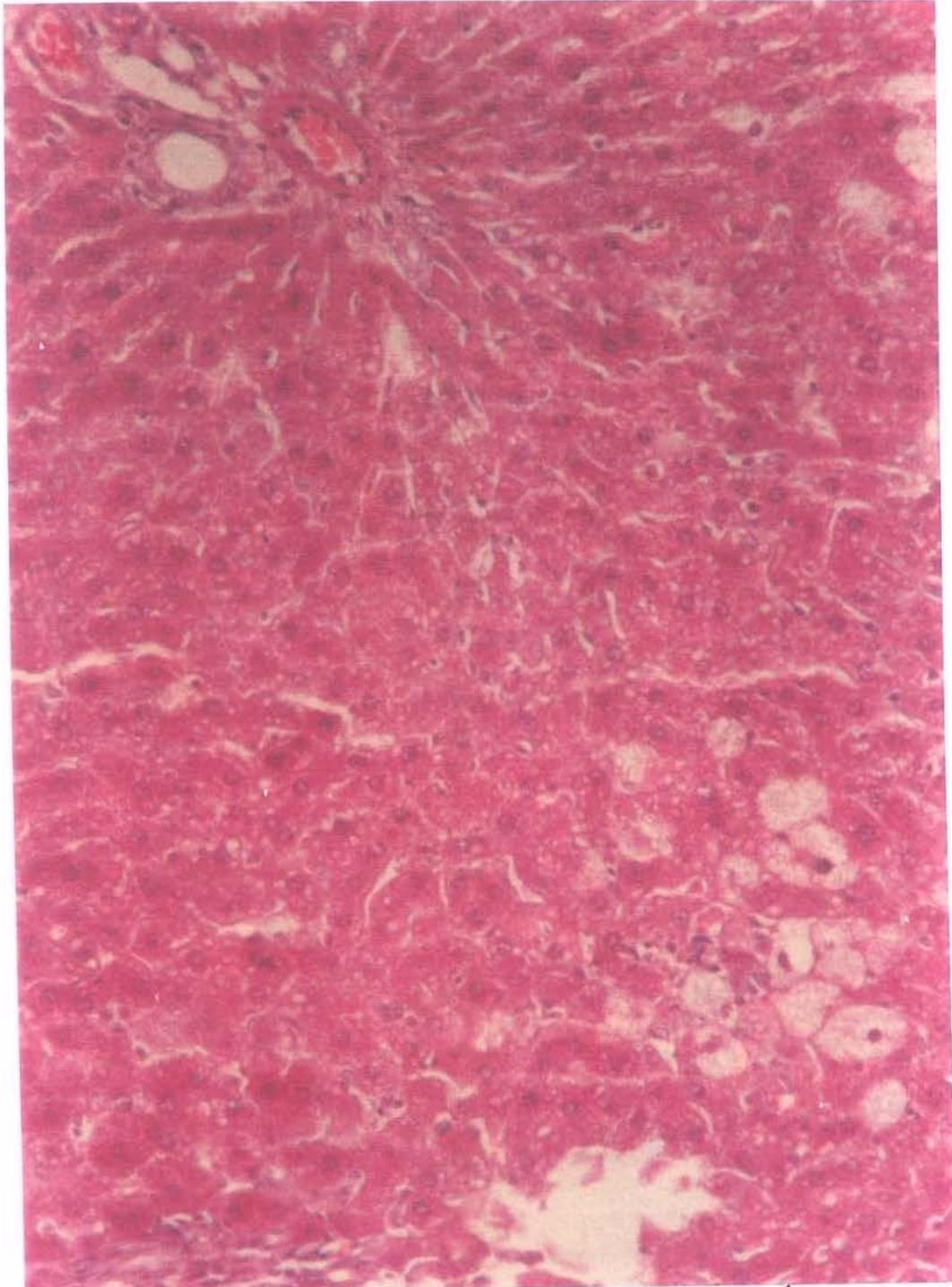
Lâmina 4 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum variable* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas (ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



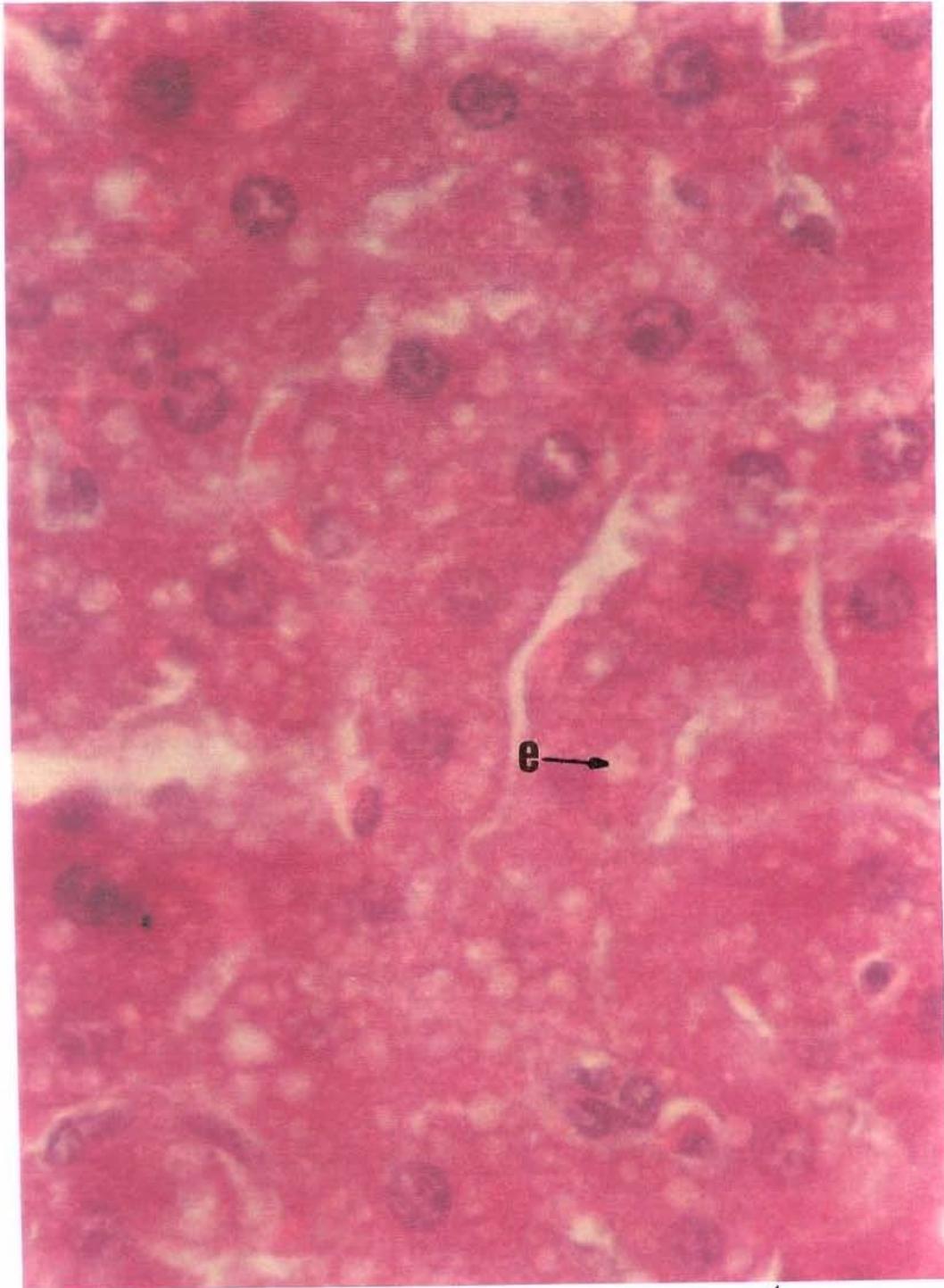
Lâmina 5 - Grupo controle com o EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas (ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



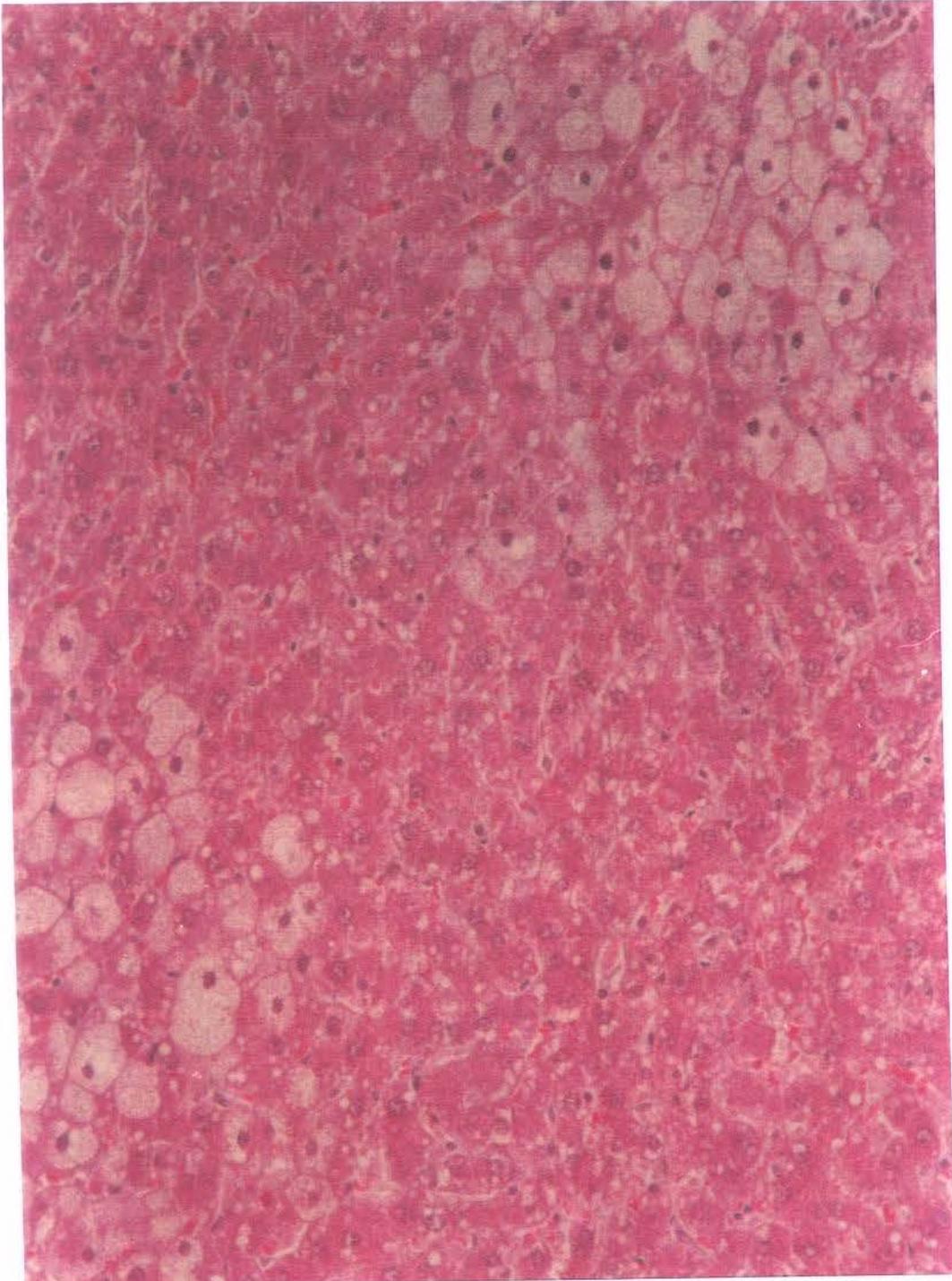
Lâmina 6 - Grupo controle tratado com o EHE de *Solanum cernuum* V. (1,0 g.kg⁻¹). Corte histológico de parênquima hepático de rato, exibindo a veia central (vc), espaços sinusóides (s) e cordões de células hepáticas (ch) dentro dos parâmetros de normalidade. H & E 100x.



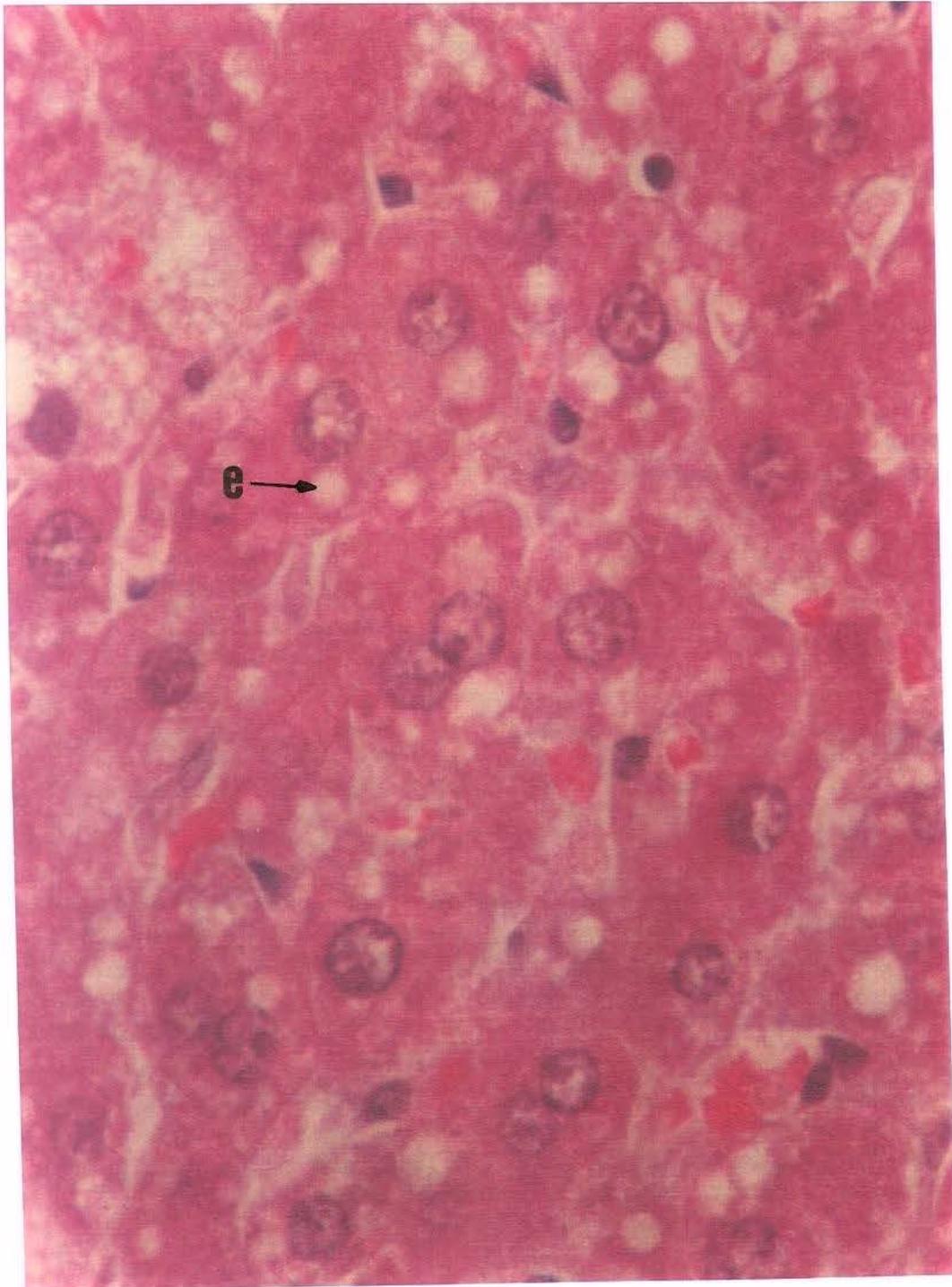
Lâmina 7 - Grupo tratado somente com CCl₄ (1,5 mL.kg⁻¹, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.



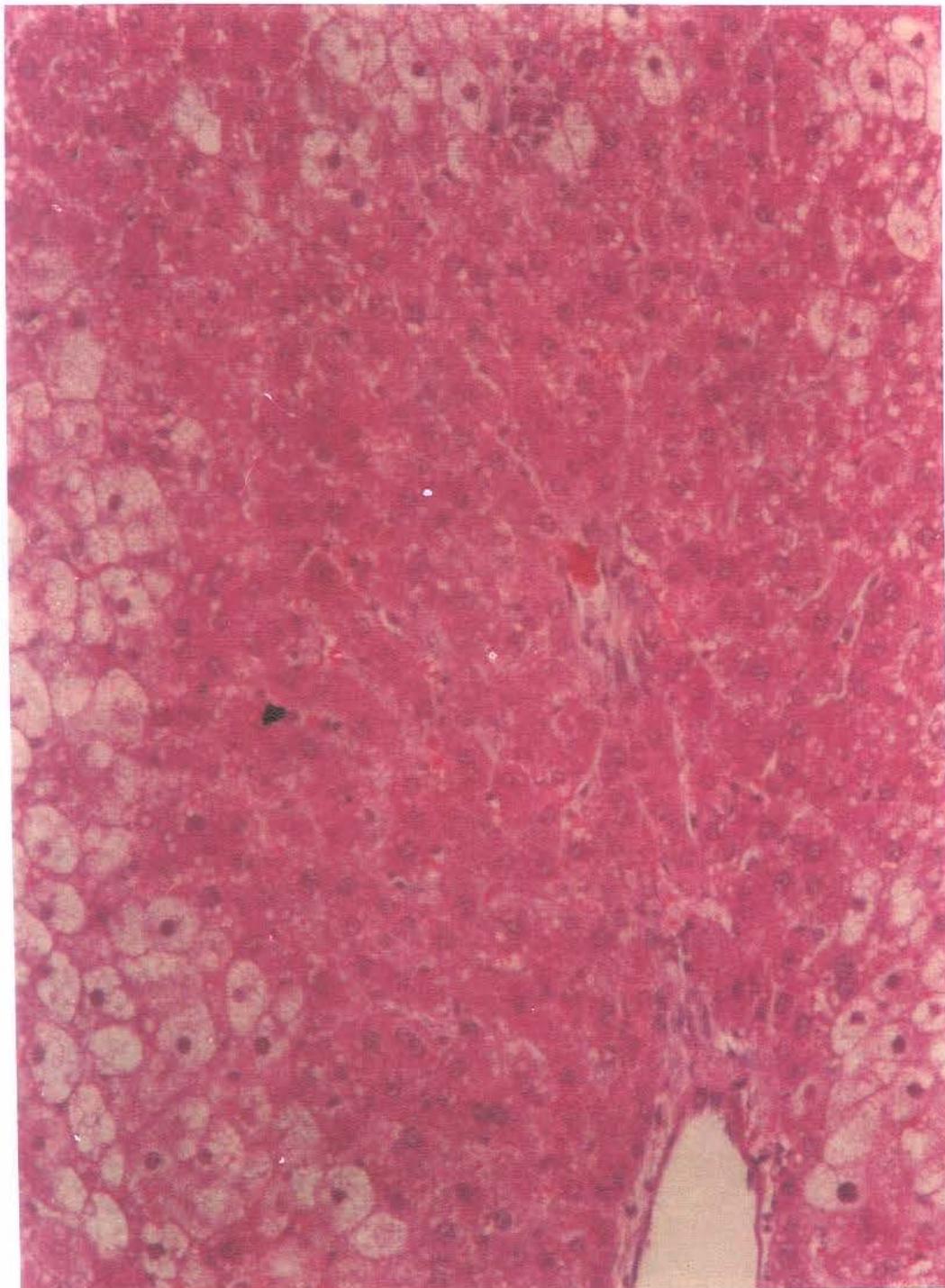
Lâmina 8 - Grupo tratado somente com CCl₄ (1,5 mL.kg⁻¹, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



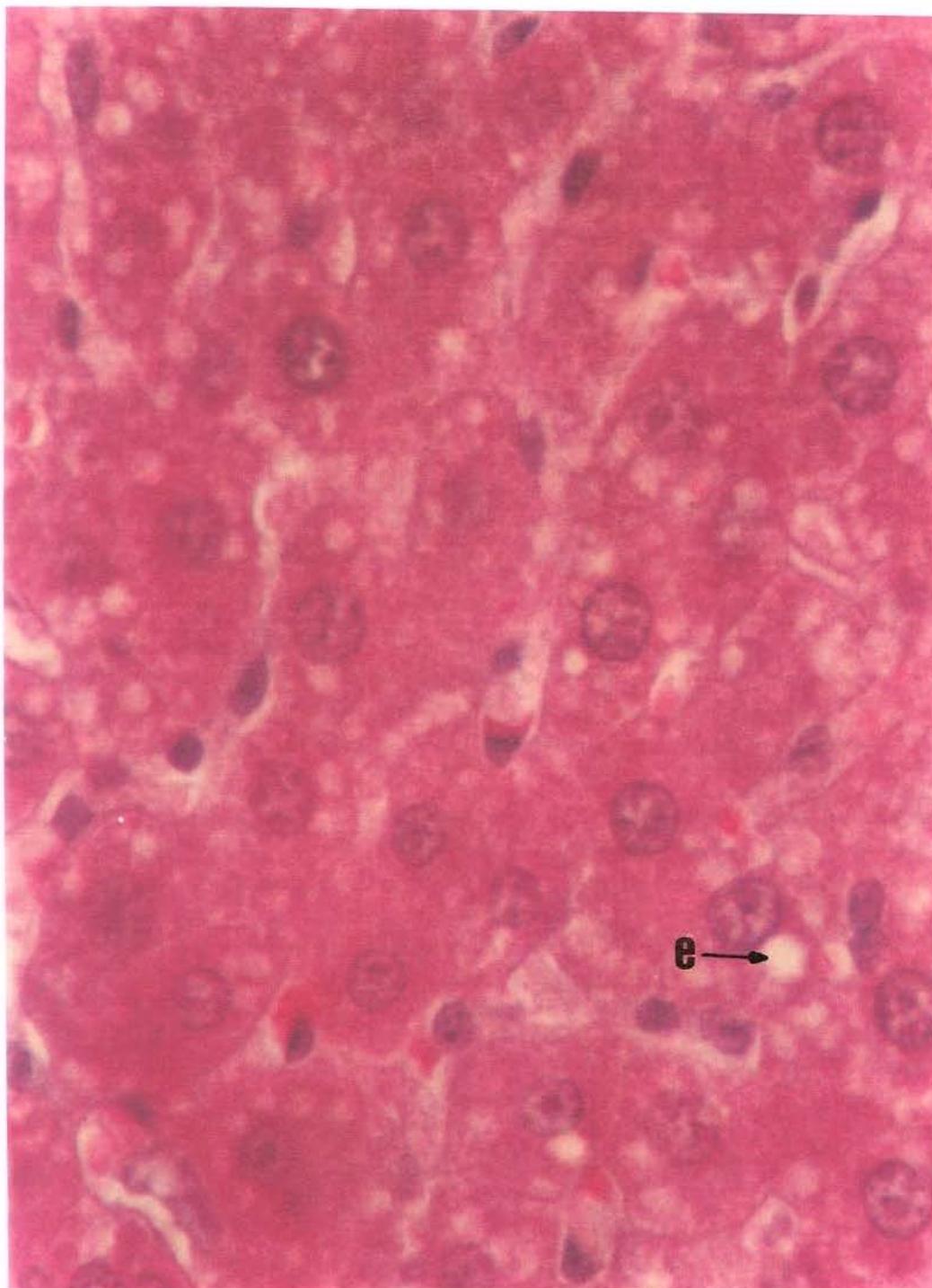
Lâmina 9 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.



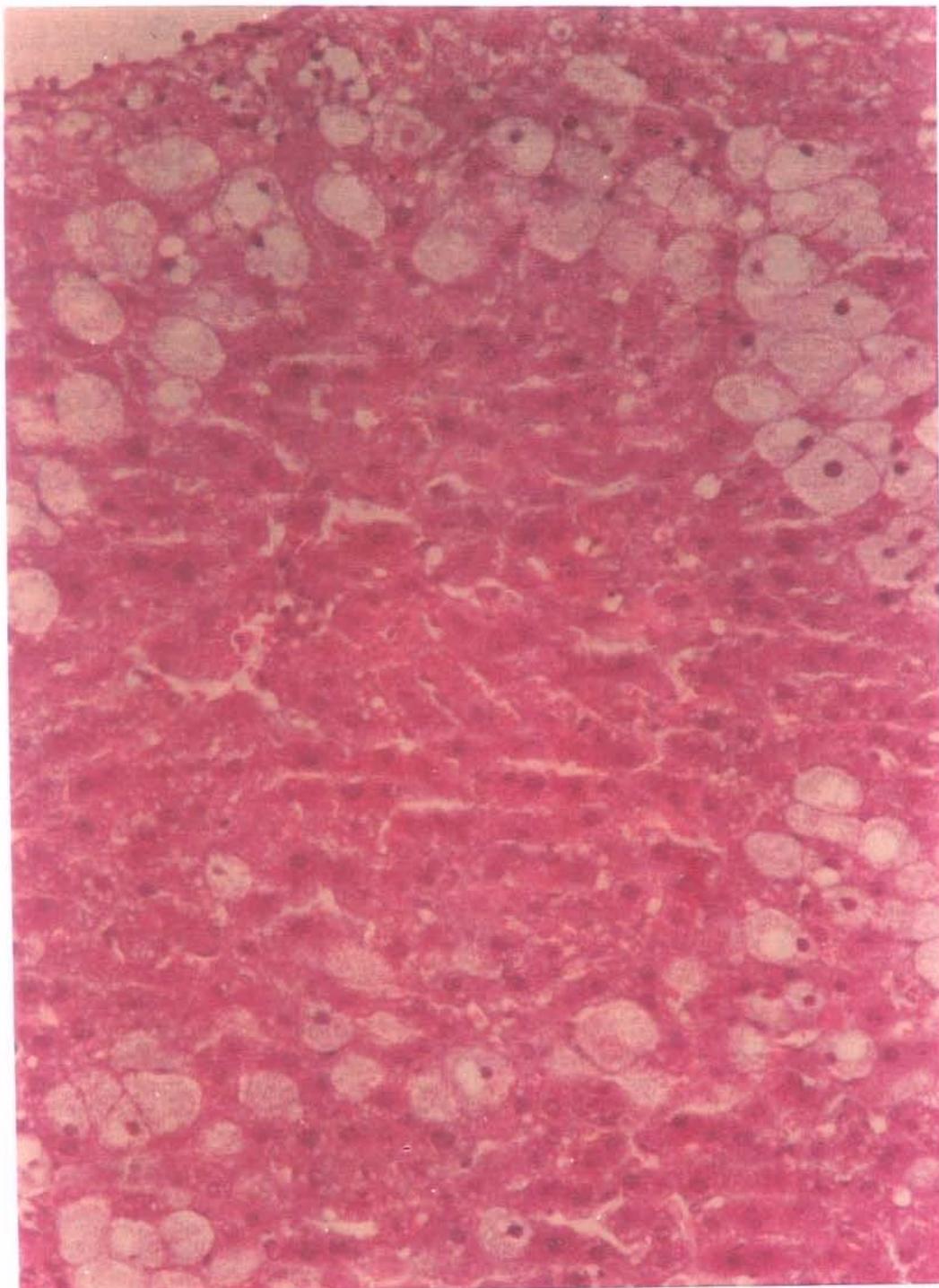
Lâmina 10 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



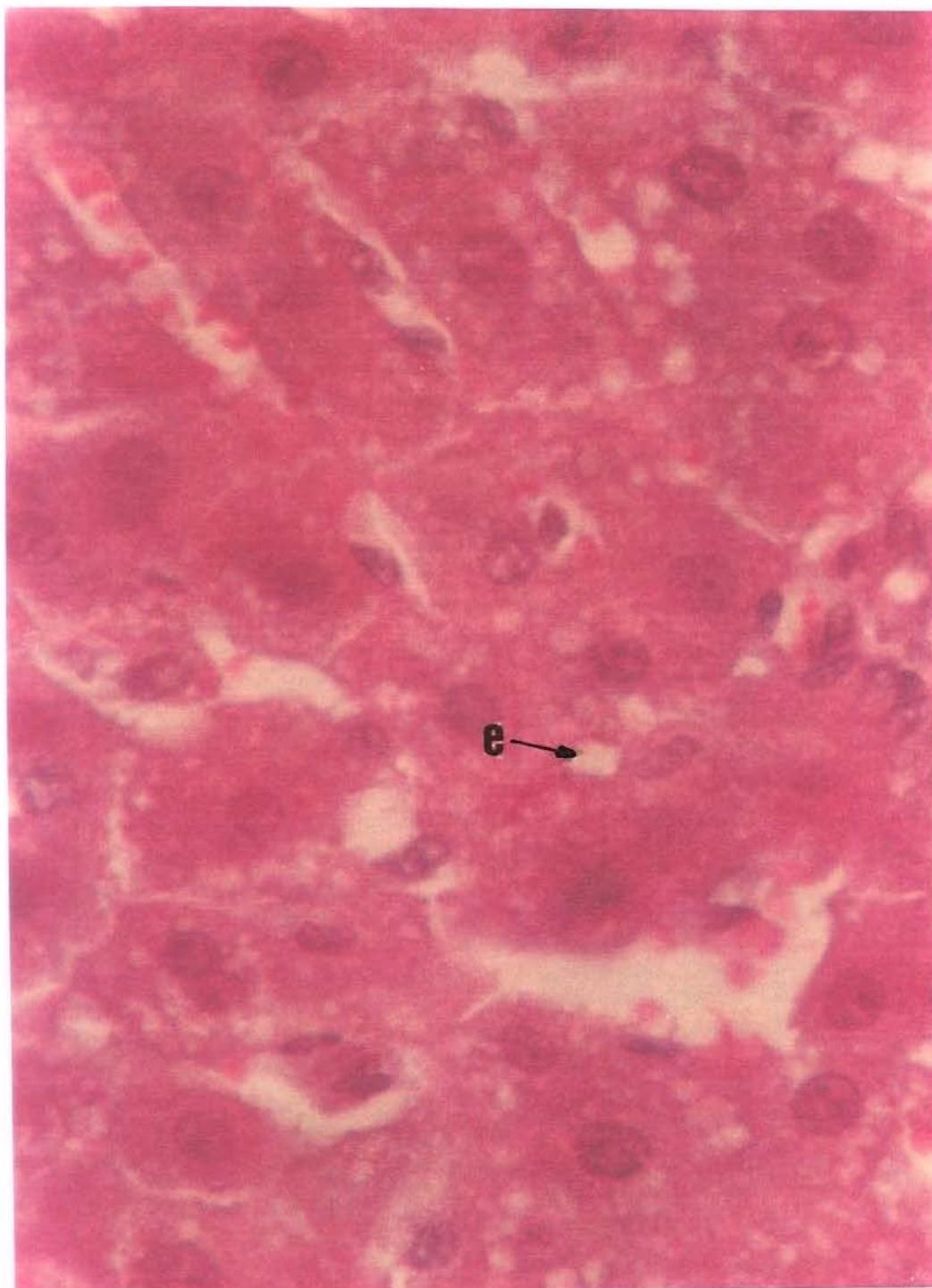
Lâmina 11 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.



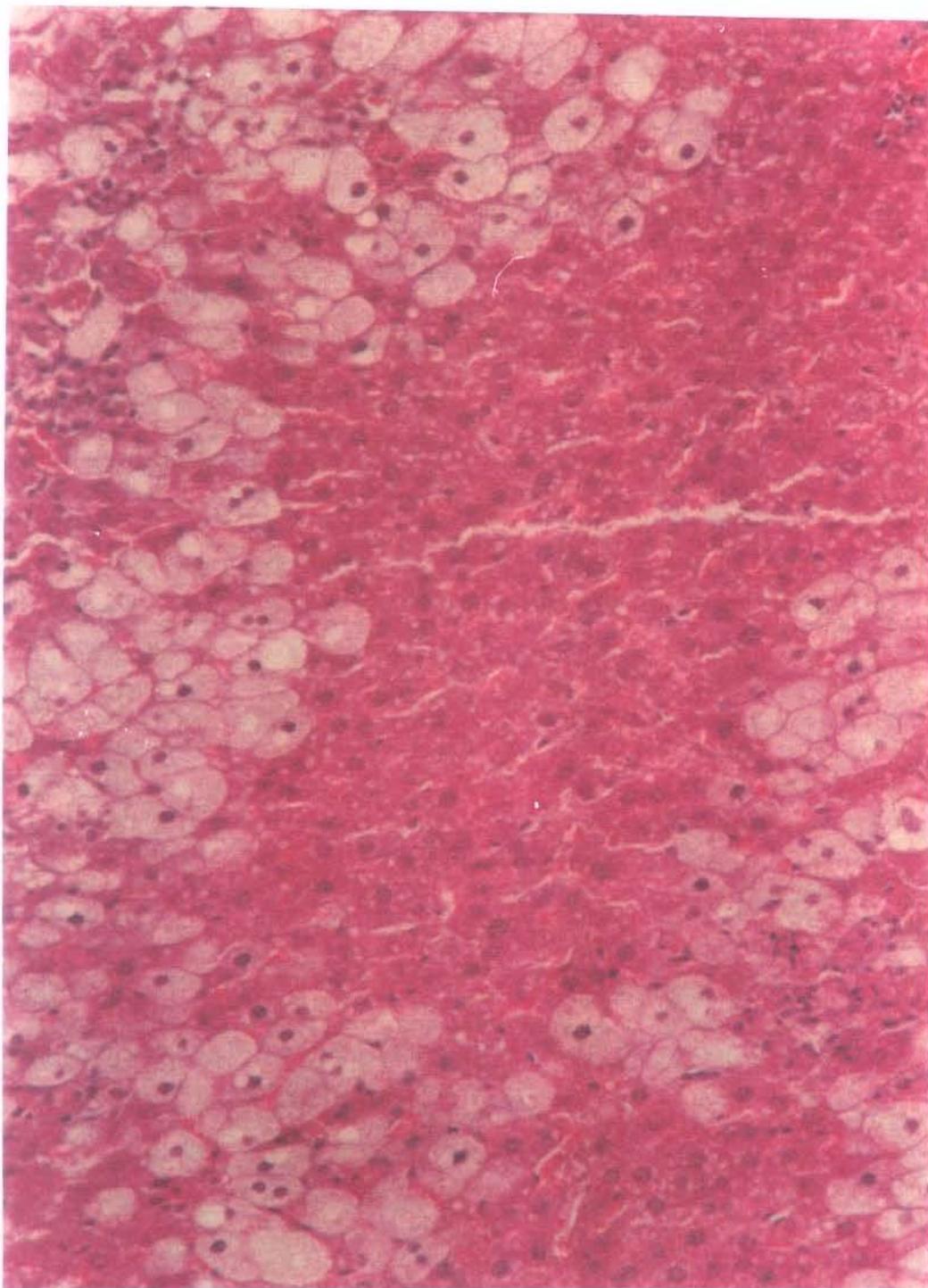
Lâmina 12 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



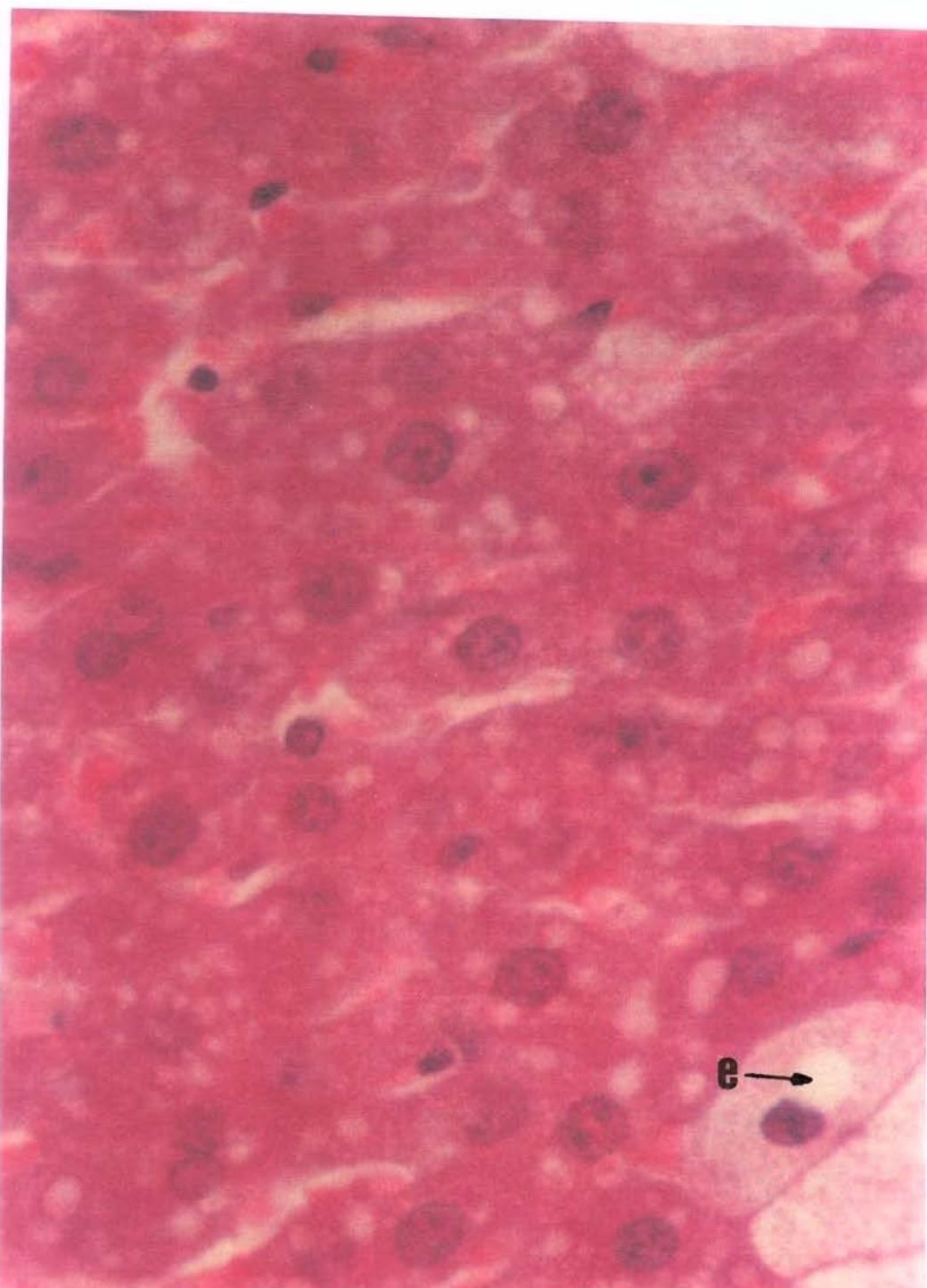
Lâmina 13 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M.(1,0 g.kg^{-1}). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.



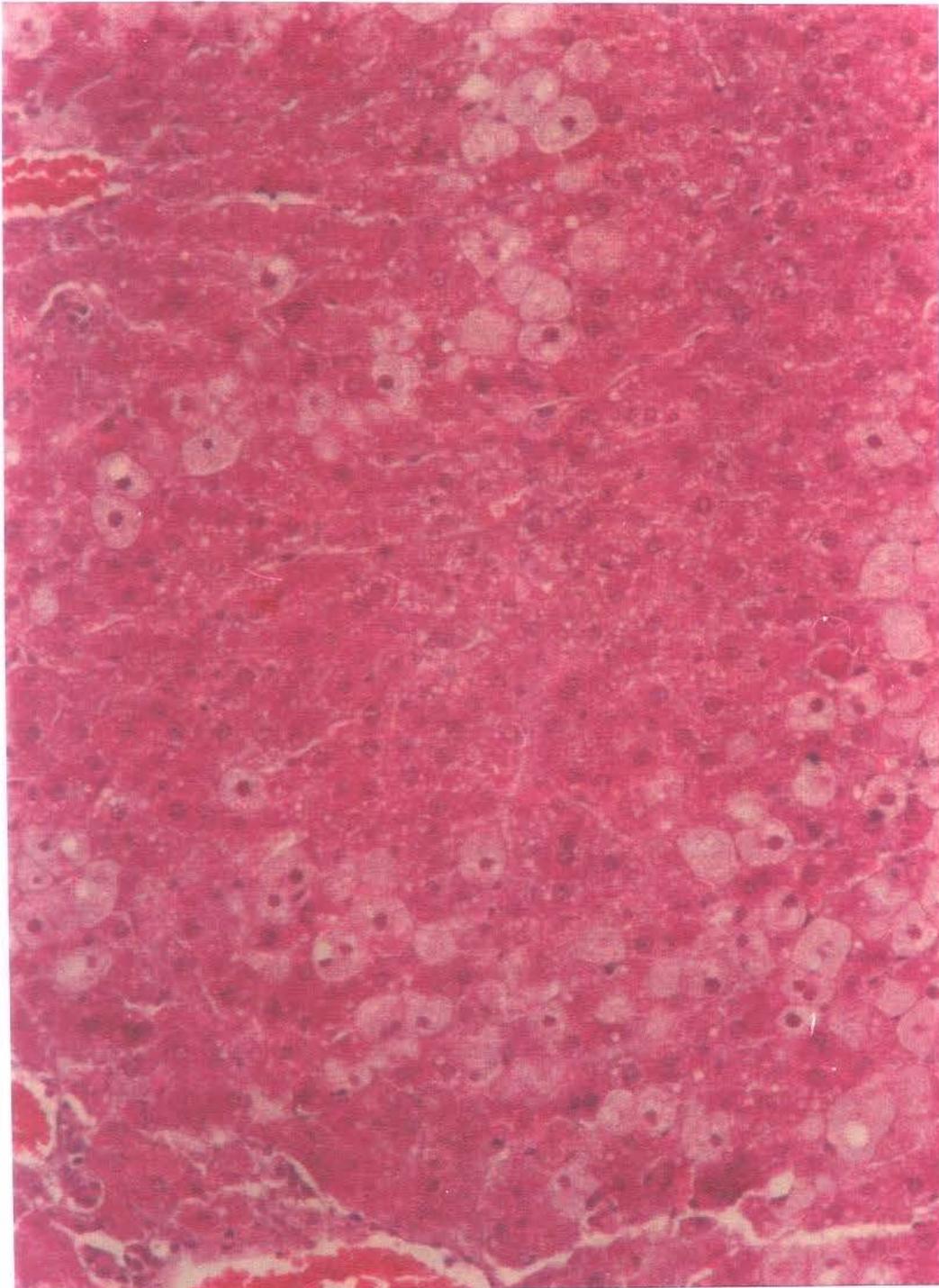
Lâmina 14 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



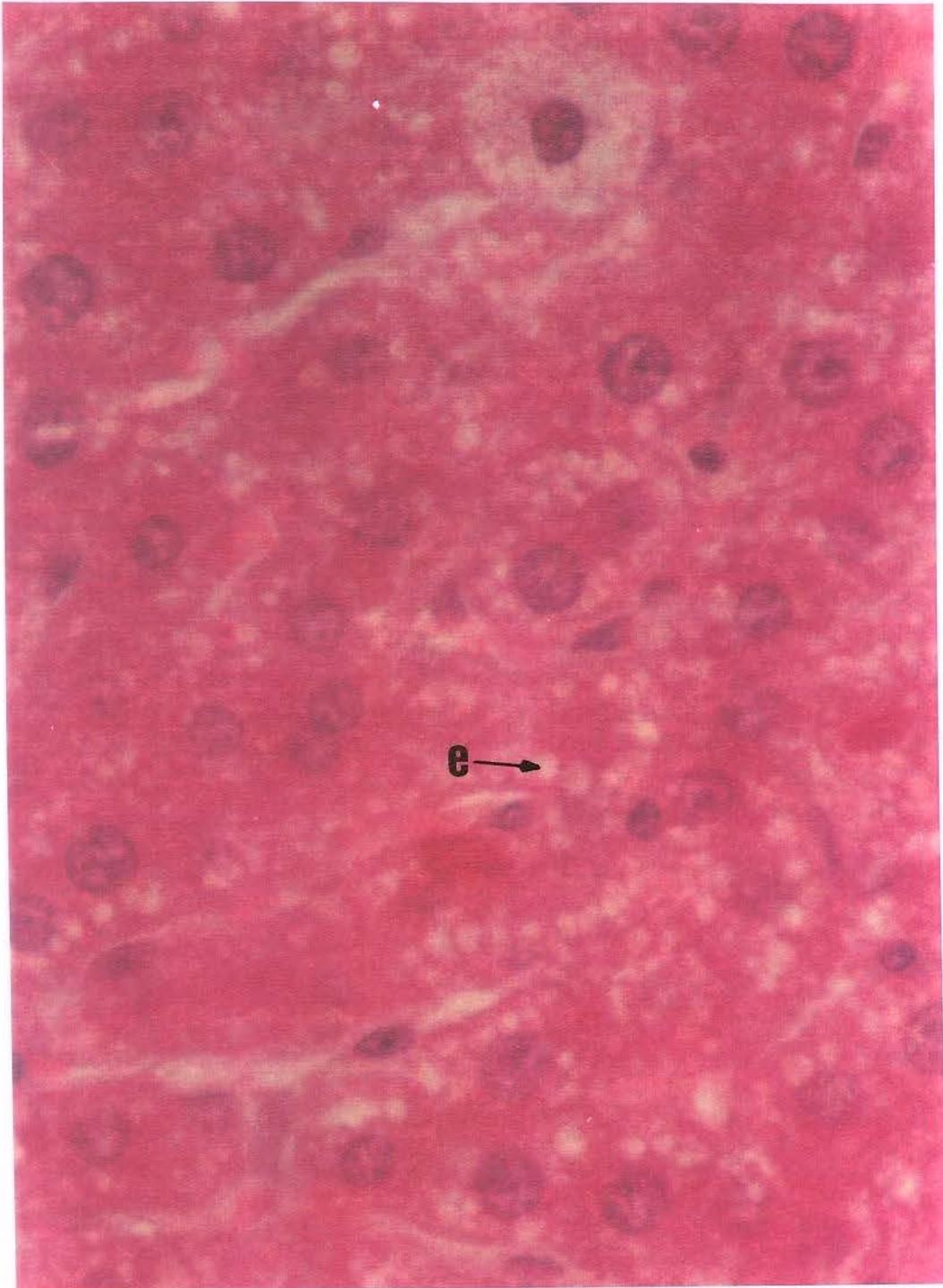
Lâmina 15 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular. H & E 100x.



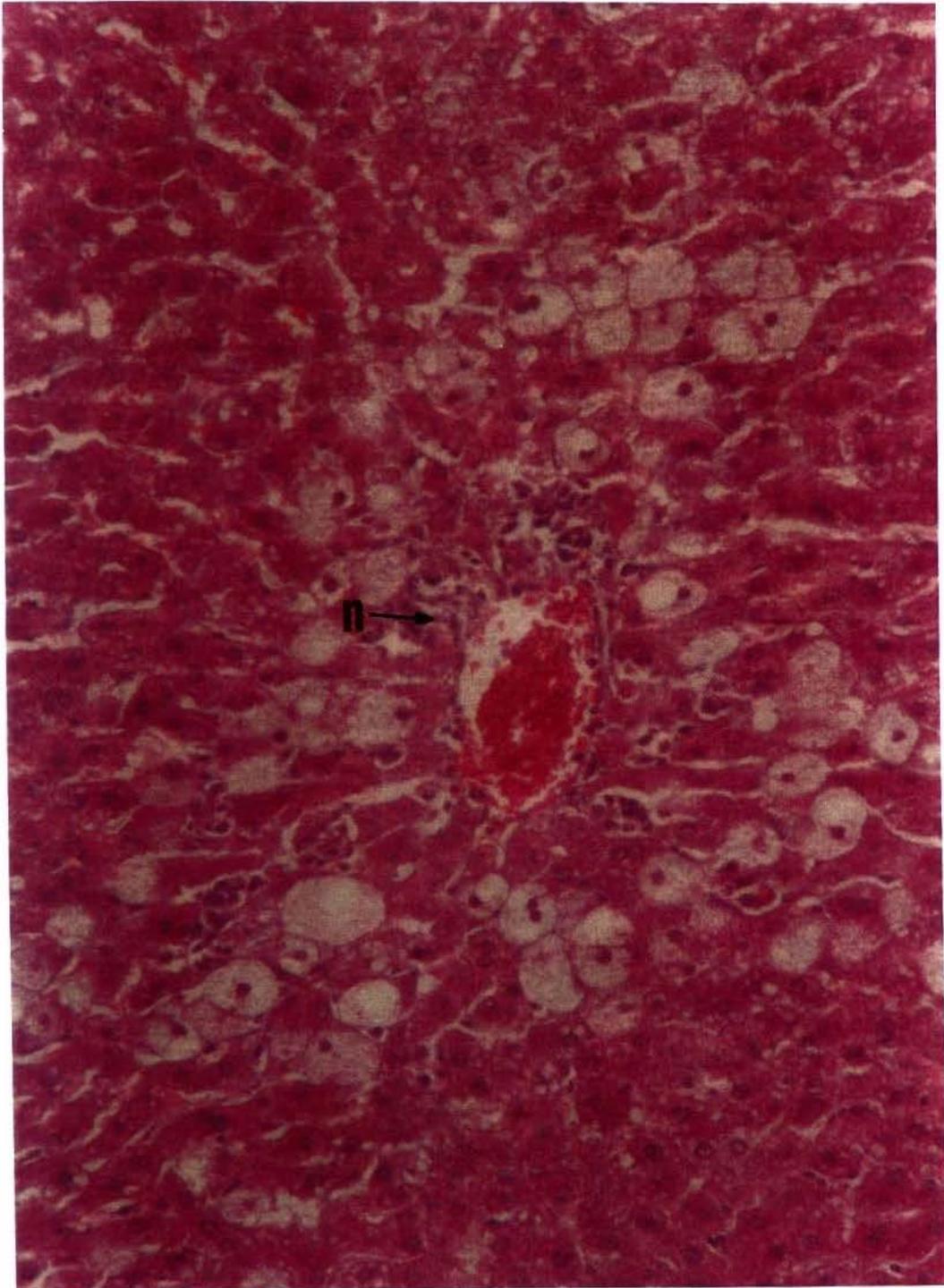
Lâmina 16 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



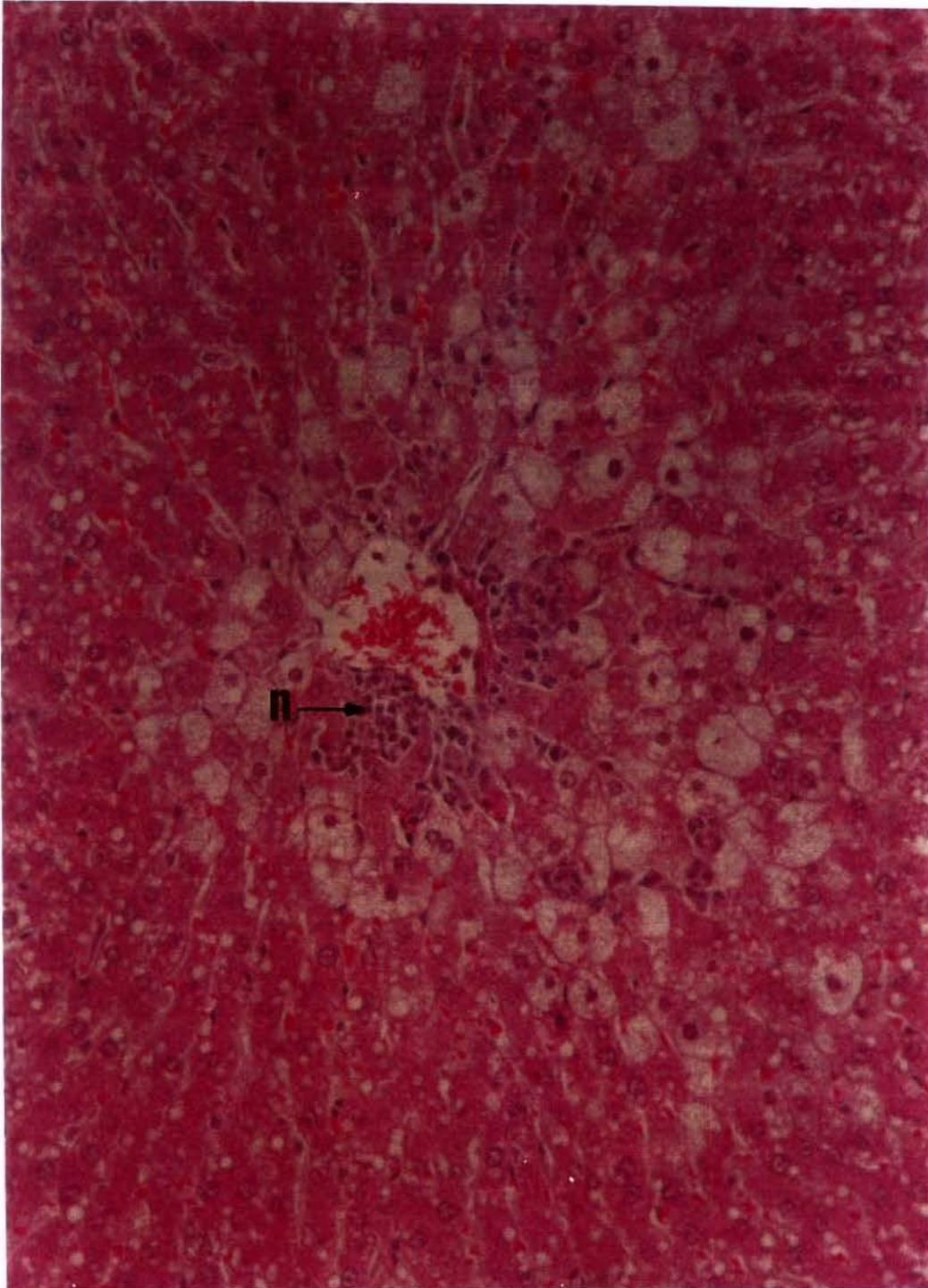
Lâmina 17 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática. H & E 100x.



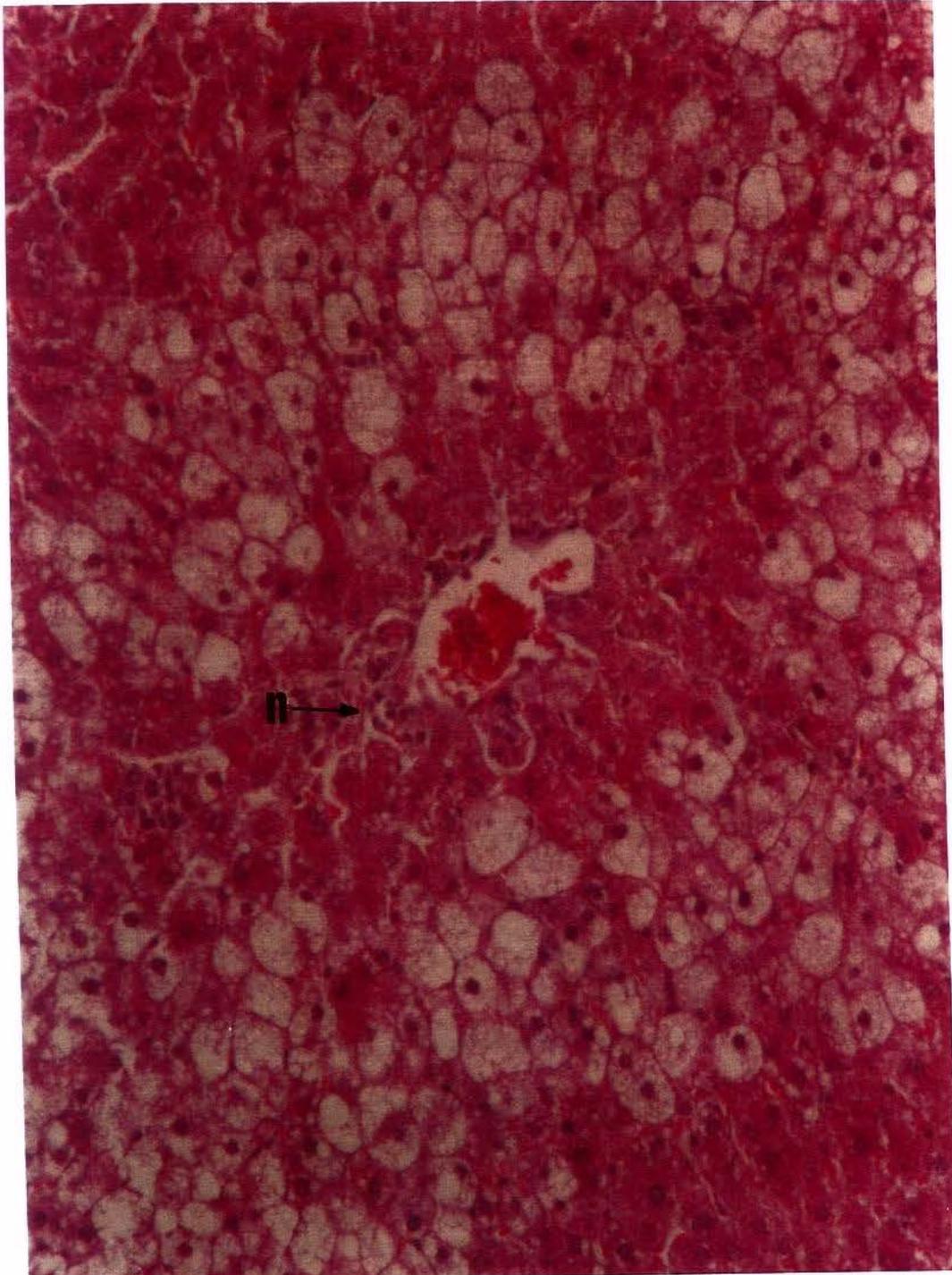
Lâmina 18 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa esteatose hepática microvesicular (e). H & E 400x.



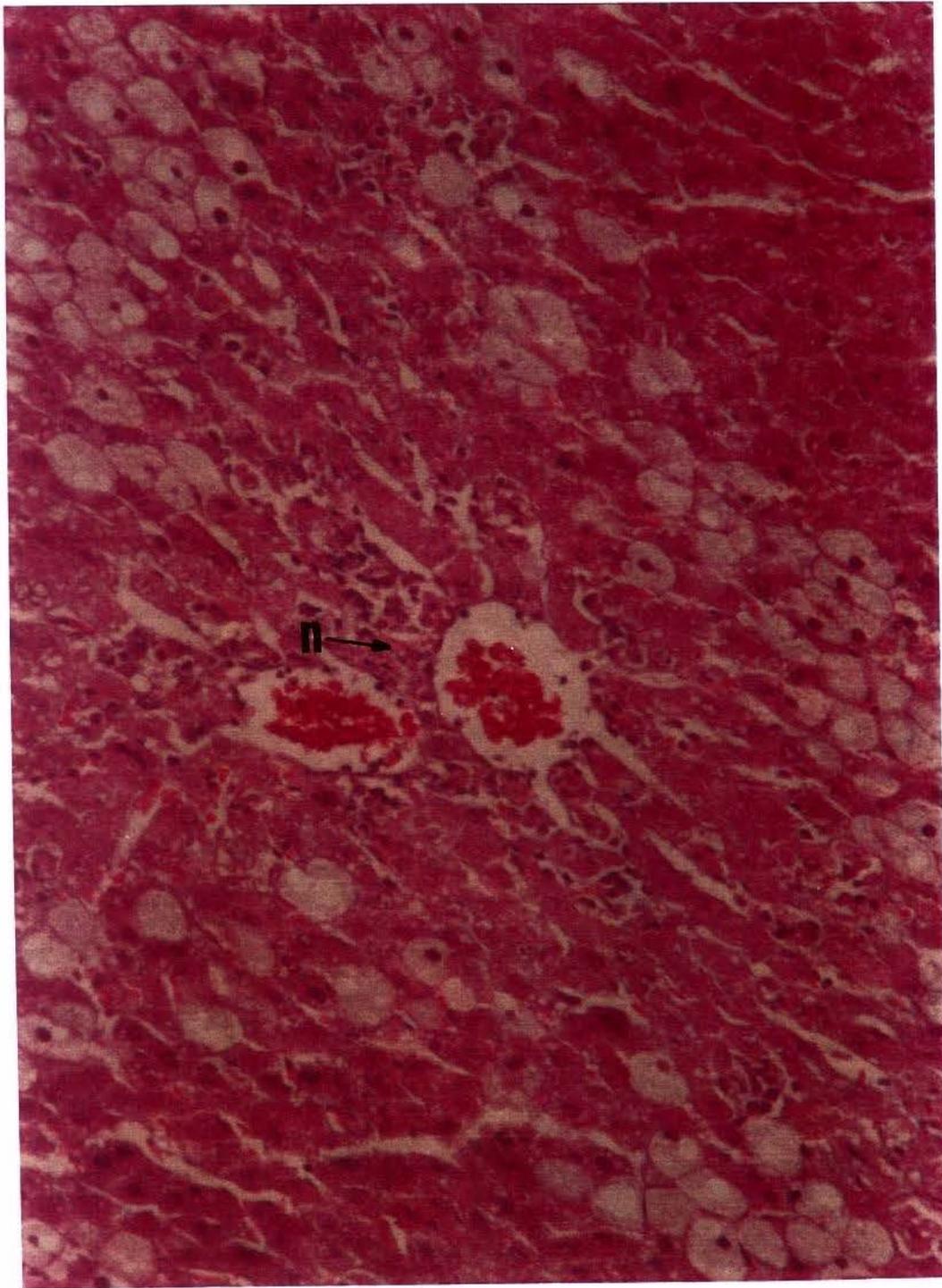
Lâmina 19 - Grupo tratado somente com CCl₄ (1,5 mL.kg⁻¹, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



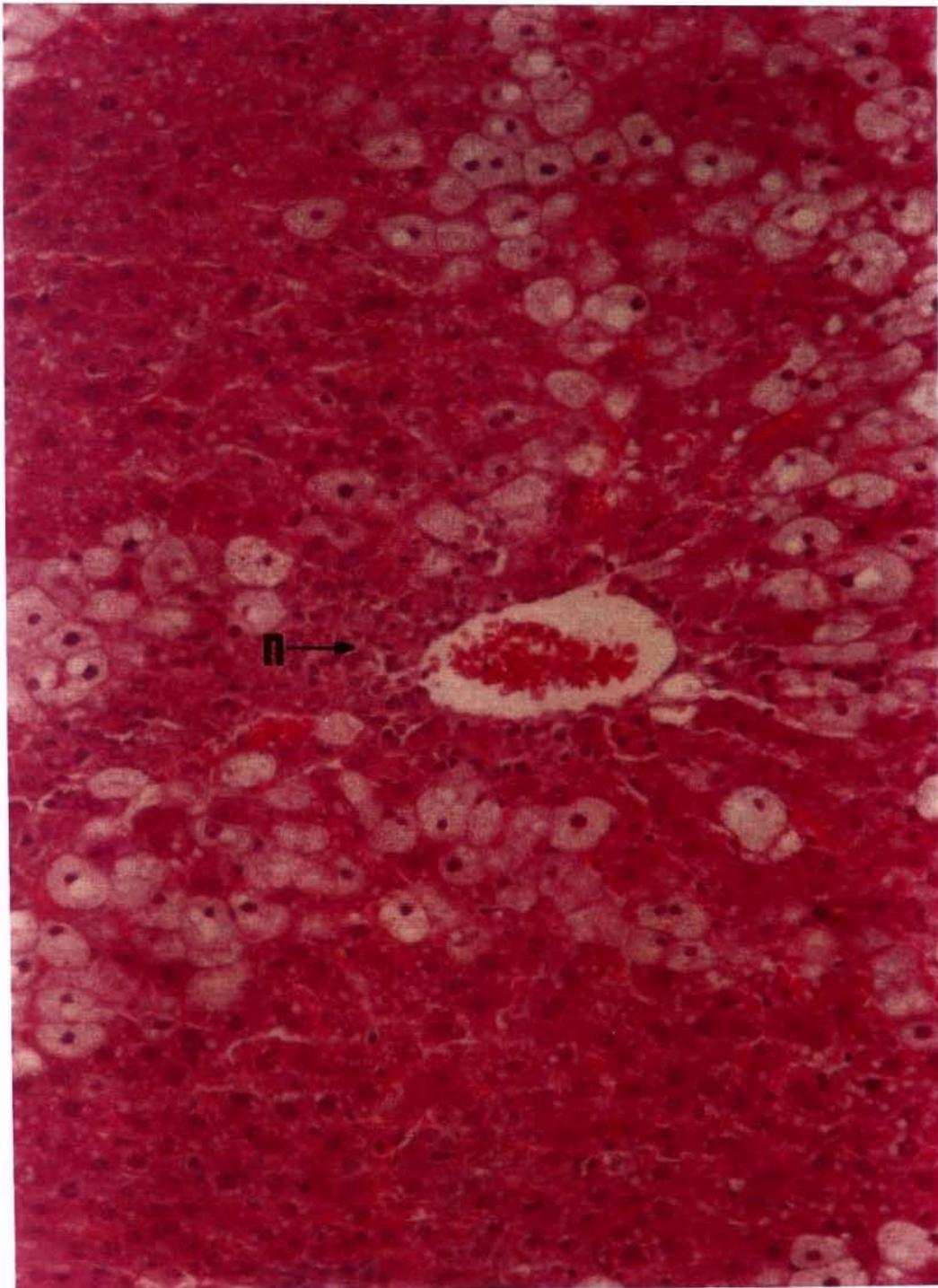
Lâmina 20 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



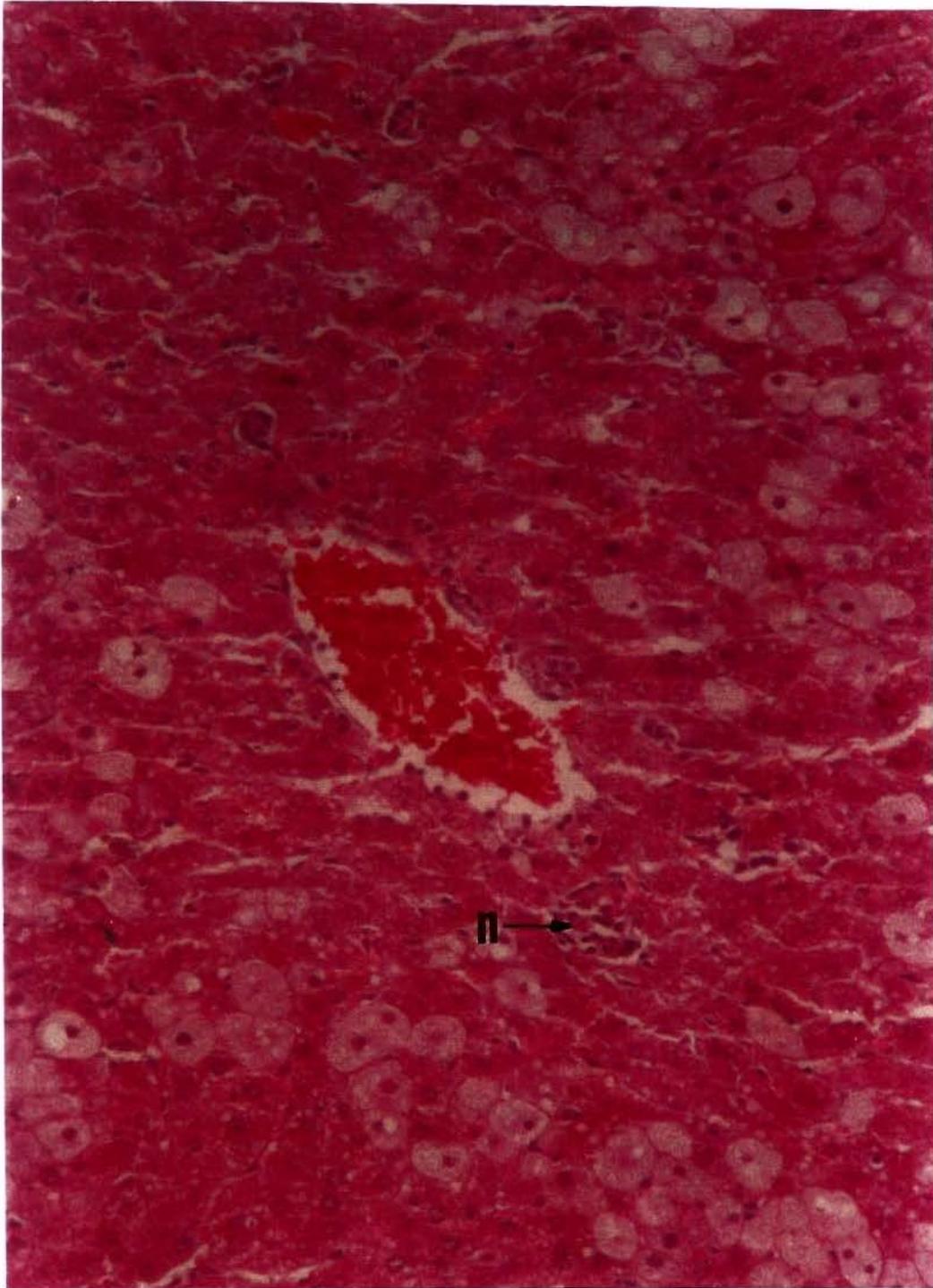
Lâmina 21 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



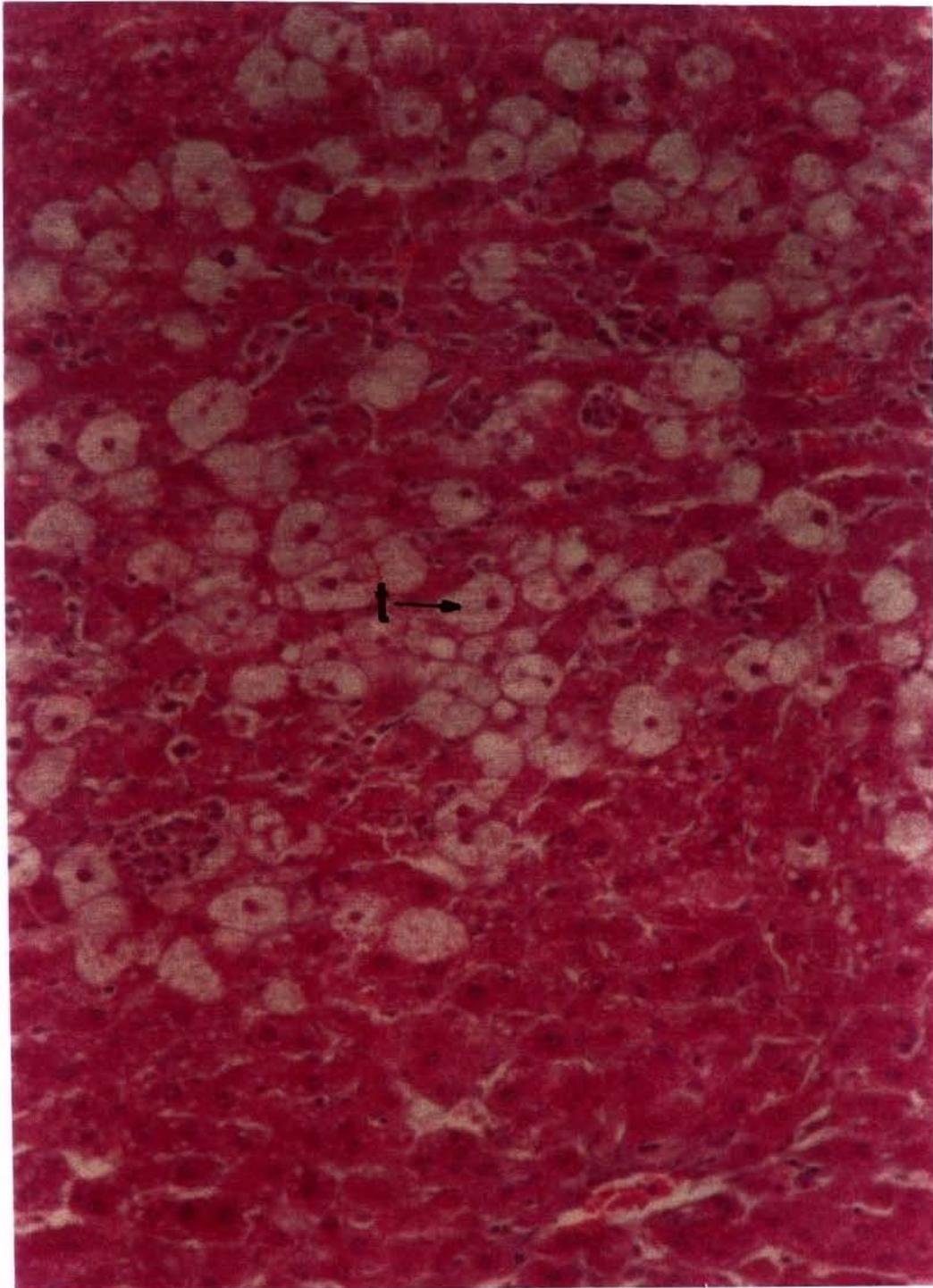
Lâmina 22 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



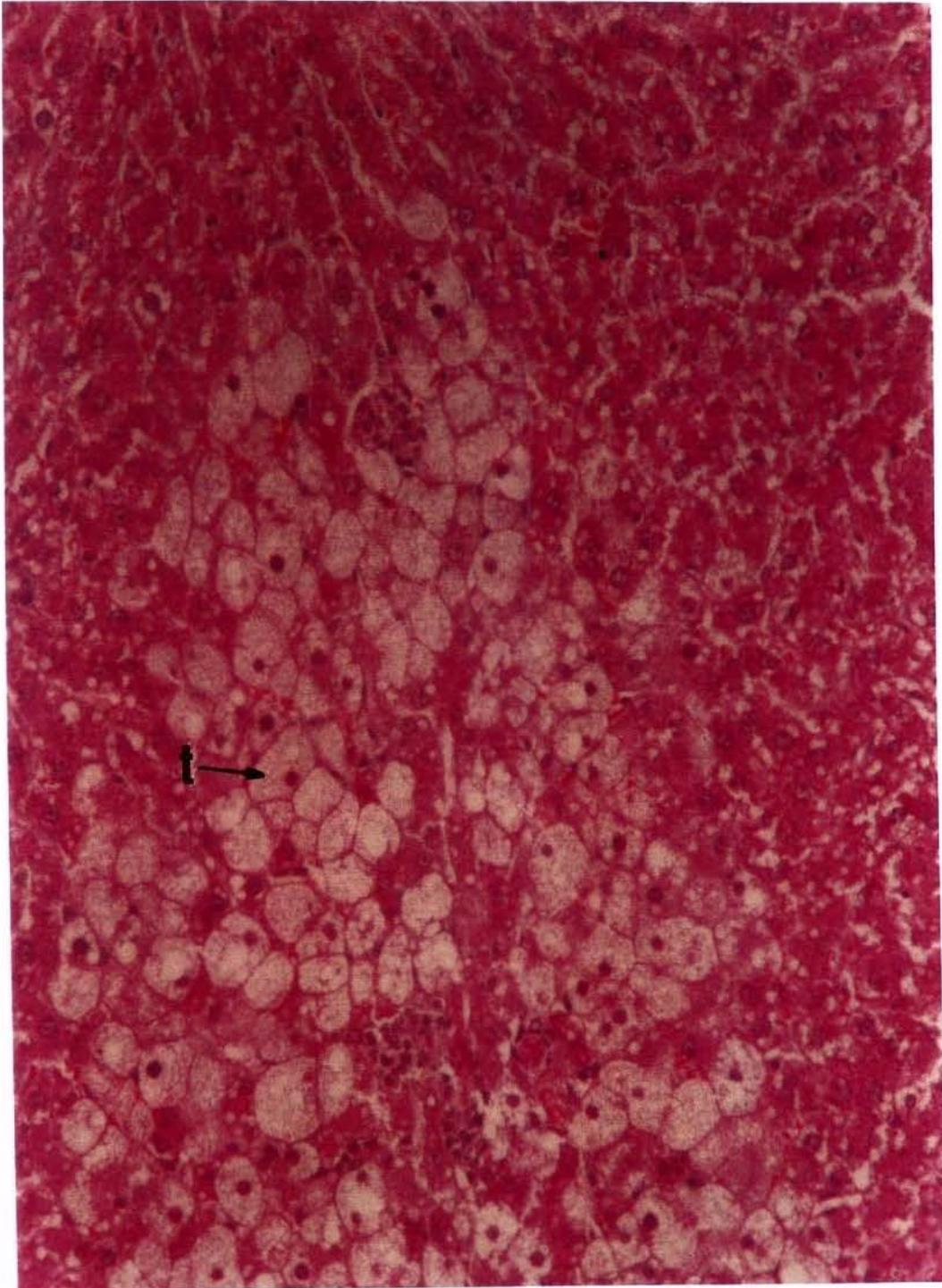
Lâmina 23 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



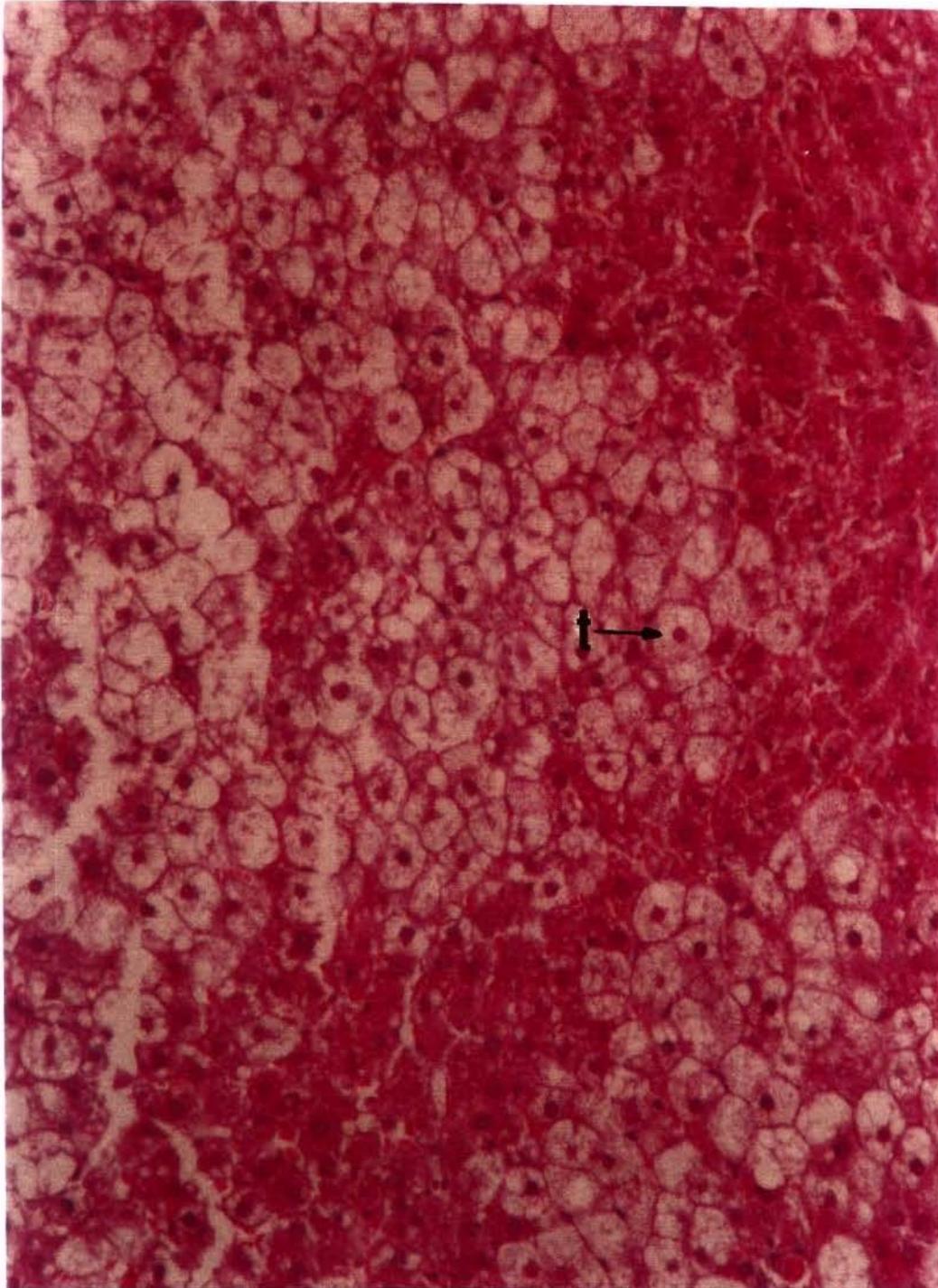
Lâmina 24 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada necrose dos hepatócitos (n). H & E 100x.



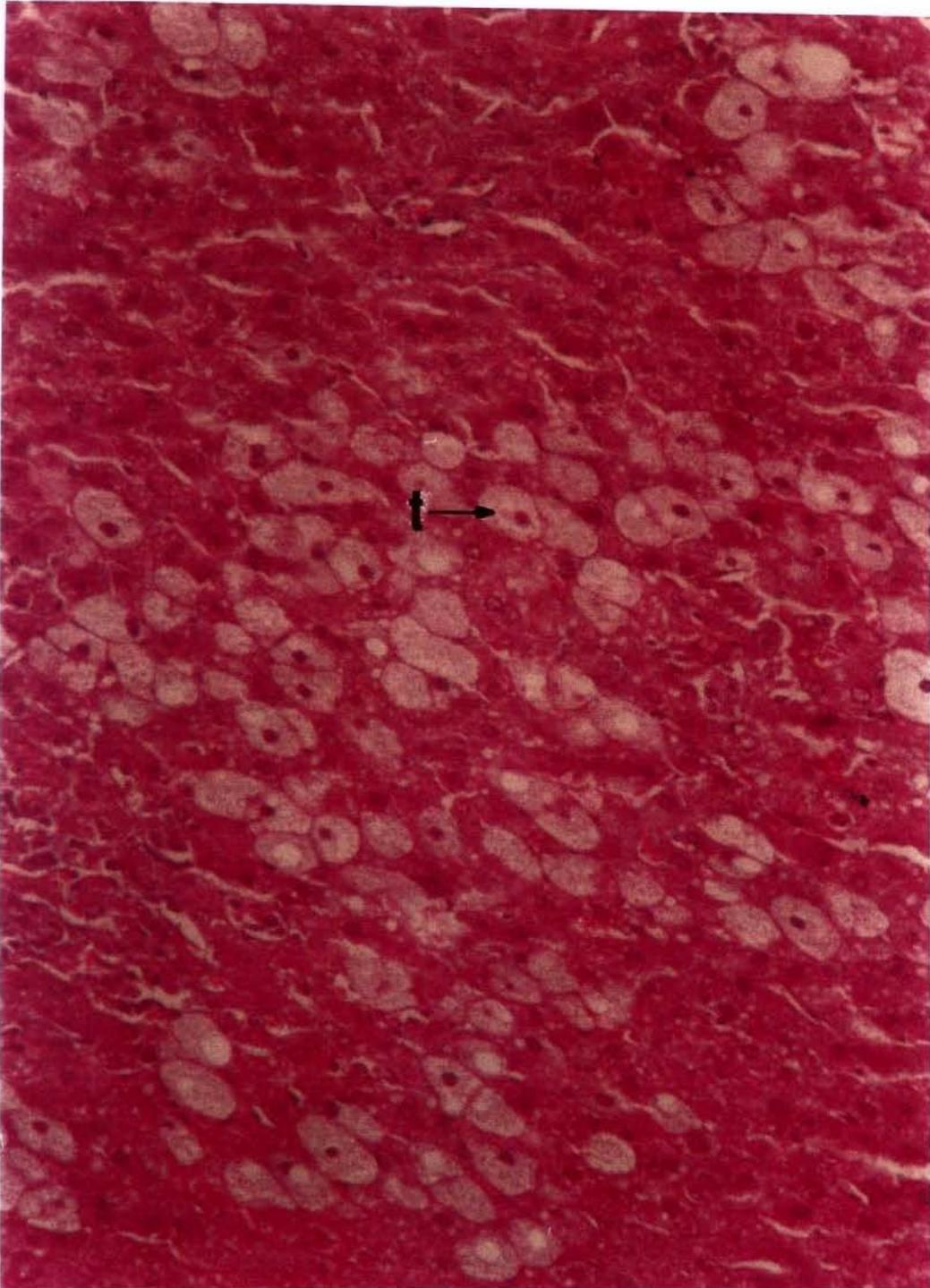
Lâmina 25 - Grupo tratado somente com CCl₄ (1,5 mL.kg⁻¹, em óleo de oliva a 40%, v/v). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.



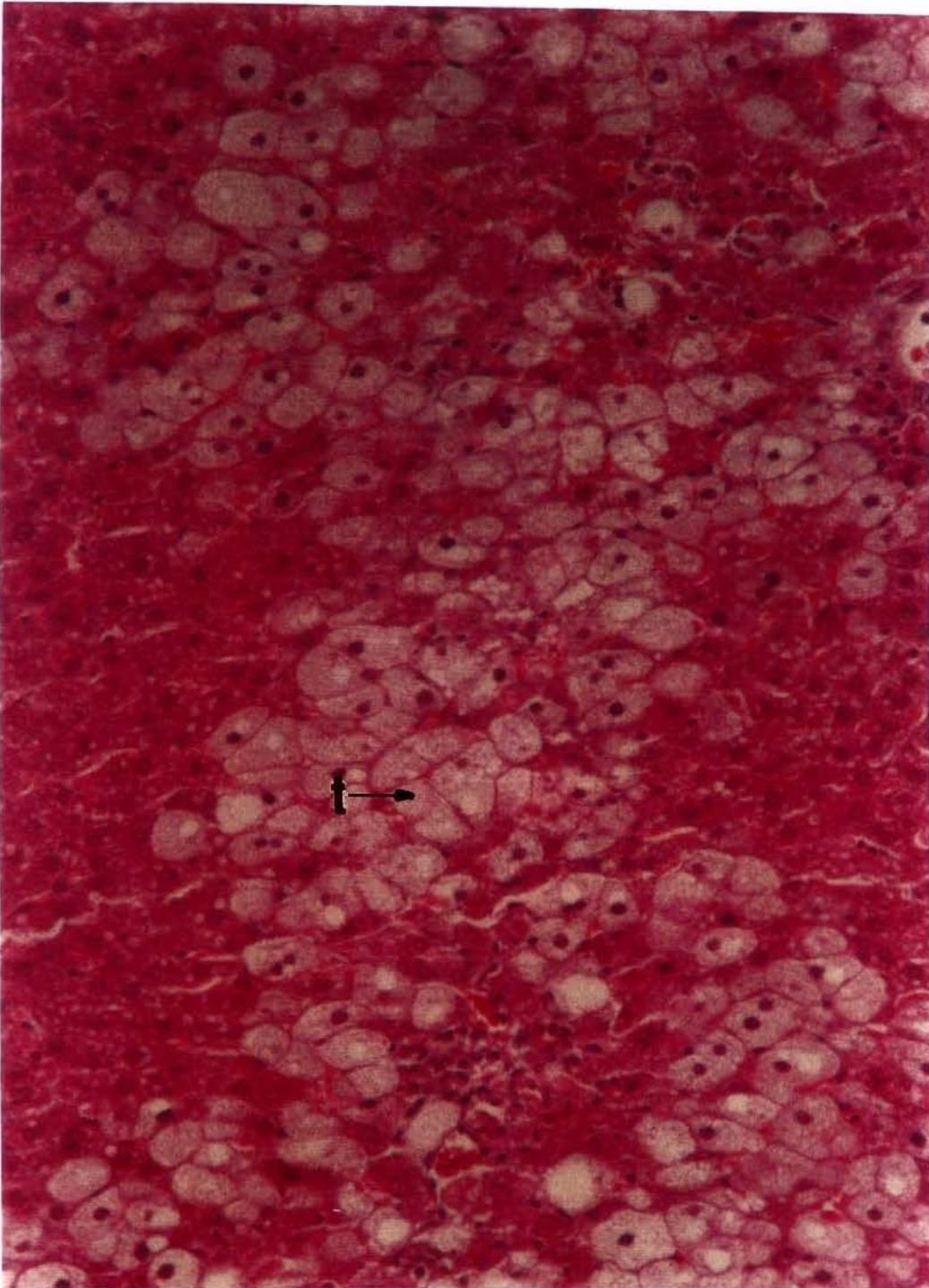
Lâmina 26 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada tumescência turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.



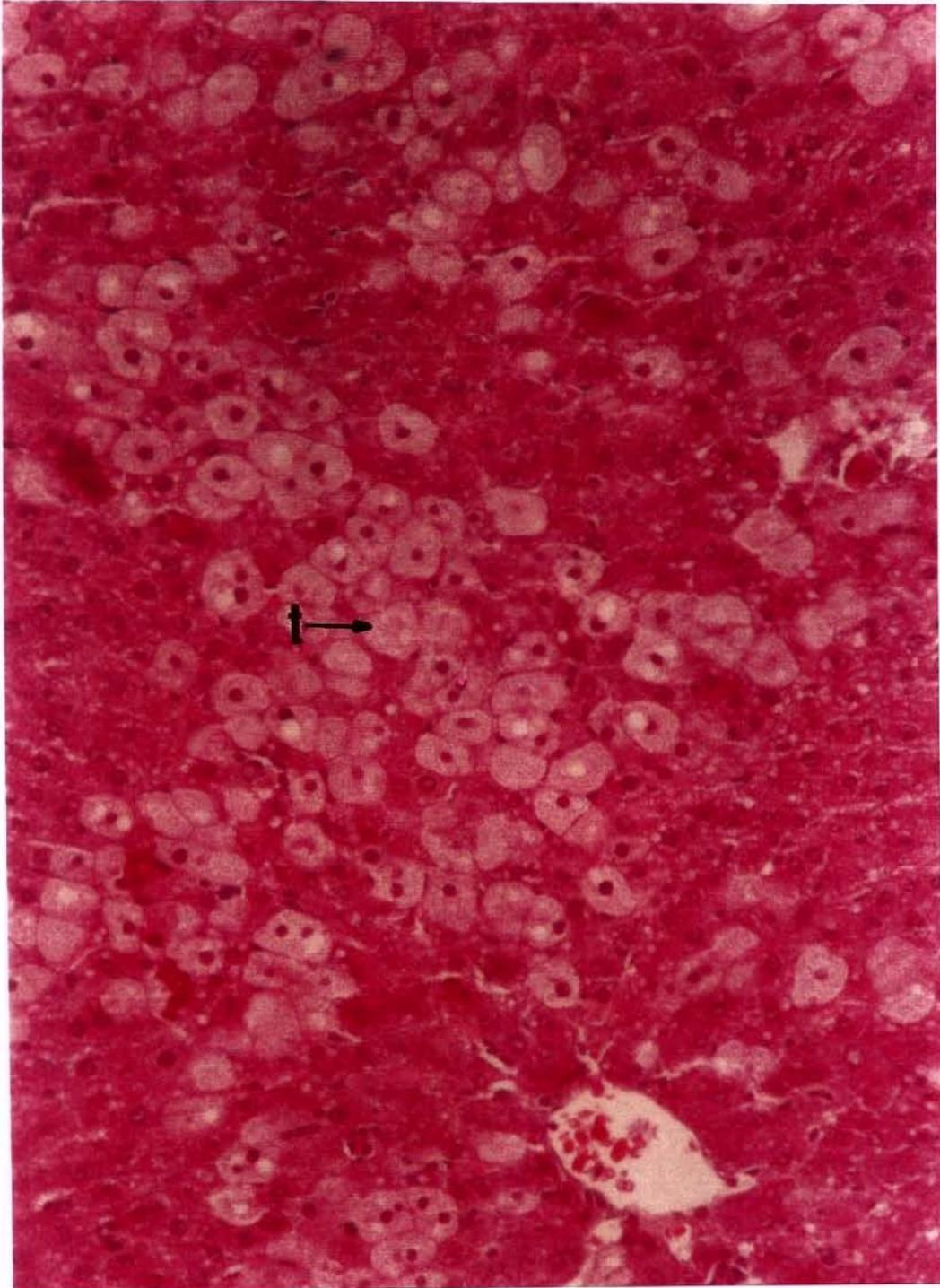
Lâmina 27 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum paniculatum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.



Lâmina 28 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum variable* M. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.



Lâmina 29 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum nigrum* L. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando intensa tumefação turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.



Lâmina 30 - Grupo tratado com CCl_4 mais EHE de *Solanum cernuum* V. ($1,0 \text{ g.kg}^{-1}$). Corte histológico de parênquima hepático de rato, apresentando moderada tumefação turva dos hepatócitos (t). H & E 100x.

8. DISCUSSÃO

8. DISCUSSÃO

8.1. CONSIDERAÇÕES SOBRE A METODOLOGIA EMPREGADA

O correto aproveitamento das plantas medicinais e seus derivados, seja para fins comerciais ou de aplicação em saúde pública, tem, como etapa inicial obrigatória, a sua validação através da pesquisa científica (ABREU MATOS, 1995).

A escolha das espécies *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M. e *Solanum cernuum* V., aplicadas em protocolo de toxicidade hepática utilizando-se o tetracloreto de carbono como hepatotoxina, se fundamentou em critério etnofarmacológico (ELISABETSKY & MORAES, 1988), elencando-se plantas que apresentassem indicação popular no tratamento de distúrbios hepáticos. A principal vantagem técnica da aplicação desse procedimento, baseia-se no fato de que, quando uma espécie é selecionada mediante a utilização terapêutica por determinado grupo étnico, as possibilidades de sucesso na investigação farmacológica são mais promissoras (TROTTER *et al.*, 1982; ELISABETSKY & WANNMACHER, 1993; SOUZA BRITO, 1996).

O critério quimiotaxonômico foi empregado para espécie *Solanum nigrum* L. Tal procedimento é aplicado na seleção de espécies de acordo

com uma determinada categoria de compostos químicos encontrados em um gênero ou família vegetal, e que possam presumivelmente apresentar efeitos biológicos característicos (SOUZA BRITO, 1996).

O princípios ativos encontrados em plantas medicinais se configuram como metabólitos intermediários, não servindo como elementos nutritivos (WILLIAMS *et al.*, 1989), sendo sintetizados com o objetivo de favorecer sua sobrevivência. Assim, solo pouco fértil, mudanças climáticas freqüentes, predadores, entre outros fatores, induzem a biossíntese de tais substâncias. Pelo fato destes metabólitos não participarem dos processos vitais do vegetal, suas concentrações geralmente são baixas (SOUZA BRITO, 1996). Baseado nestas observações, procurou-se administrar concentração elevada dos extratos hidroalcoólicos evaporados (1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal) baseado no fato da possibilidade de se encontrar o princípio ativo numa proporção de 10 a 20%, tendo em vista que as substâncias-padrão utilizadas nos modelos experimentais *in vivo* serem ativas em concentrações que variam entre 100 e 200 mg.kg⁻¹ (WALRANT *et al.*, 1990; SOUZA BRITO, 1996).

As formas extrativas de princípios ativos de origem vegetal, tem sido utilizadas desde a antiguidade, e as técnicas para sua obtenção tem evoluído com o tempo. Com o maior conhecimento dos componentes químicos de cada planta, as técnicas e condições extrativas foram se adequando para cada caso. Assim, para o estabelecimento das melhores condições de extração de princípios ativos naturais no presente estudo,

levou-se em consideração os principais constituintes químicos de cada espécie, tanto os princípios ativos (alcalóides, flavonóides, saponinas, taninos) como os inativos (ácidos graxos, gomas, resinas), sendo o principal objetivo destas extrações a de obter constituintes ativos inalterados com a menor quantidade possível de componentes inativos interferentes, procurando-se desenvolver uma extração seletiva (SAITO, 1988).

As Farmacopéias definem extratos como preparações concentradas, obtidas de drogas vegetais ou animais, frescas ou secas, por meio de um dissolvente apropriado, seguido de sua evaporação total ou parcial e ajustagem do concentrado a padrões previamente estabelecidos (SILVA, 1929; Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil, 1959). Podem ser utilizadas diversas técnicas na sua obtenção, sendo porém, a percolação o processo mais indicado na extração da maioria das drogas de origem vegetal (SAITO, 1988).

Para a seleção de um solvente adequado considerou-se a solubilidade dos princípios ativos e a seletividade na extração. O álcool foi escolhido entre outros motivos no presente estudo, por ser o solvente preferencial quando da extração de princípios ativos vegetais, devido a sua baixa toxicidade, ação seletiva na dissolução da maioria dos compostos ativos (descartando componentes inertes dos extratos), e por possuir ponto de ebulição relativamente alto. Além dessas qualidades, ainda pode incrementar a estabilidade dos extratos, devido à sua ação solvente, agindo como conservante, reduzindo a possibilidade de alterações físico-químicas

de princípios ativos extrativos (hidrólise) e a deterioração decorrente de contaminação microbiana (SAITO, 1988; REMINGTON, 1990).

No presente estudo obteve-se os extratos fluídos das espécies *Solanum paniculatum* L., *Solanum variable* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V. por percolação, utilizando o Processo A descrito nas Farmacopéias 1º e 2º edições, tendo como líquido extrator uma solução hidroalcoólica a 70%. Como os glicoalcalóides eram os constituintes majoritários nas espécies estudadas de acordo com a descrição da literatura, optou-se por solventes mais polares como álcool e água, visto que no vegetal, os glicoalcalóides se encontram quase sempre na forma de sais de ácidos orgânicos (benzóico, cítrico, isobutírico, málico, oxálico, tartárico), apresentando elevada solubilidade em solventes polares, daí a utilização soluções hidroalcoólicas com graduação mais elevada. (COSTA, 1975; SAITO, 1988; BRUNETON, 1991).

8.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS AMINOTRANSFERASES E O CCl₄

As aminotransferases séricas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase) são marcadores sensíveis de danos às células hepáticas, sendo úteis no reconhecimento de doenças hepatocelulares agudas e crônicas, em vários tipos de hepatite (ZIMMERMAN, 1974), assim

como de lesões experimentais promovidas pela remoção de tecido hepático (hepatectomia parcial), nos estudos de regeneração hepática (MATTOS FILHO, 1976; ARAUJO, 1992).

A elevação nos níveis de atividade destas enzimas, refletem o aumento de permeabilidade das membranas celulares, o que favorece seu extravazamento, se constituindo em indicadores de lesão em tecidos ricos em aminotransferases como o fígado (KAPLAN, 1993; HENRY, 1995; ANDERSON & COCKAYNE, 1995). A determinação de AST e ALT é de grande utilidade para o diagnóstico de hepatites virais, cirrose hepática; icterícia colestática; metástase hepática e necrose hepática tóxica (ANDERSON & COCKAYNE, 1995; HENRY, 1995; KAPLAN, 1993).

Em ensaios de toxicidade hepática estes catalisadores biológicos tem sido determinados como marcadores bioquímicos na investigação hepatoprotetora de extratos ou seus princípios isolados em protocolos experimentais utilizando o CCl₄ *ex vivo* (HIKINO *et al.*, 1985; HIKINO *et al.*, 1986; WAGNER *et al.*, 1986; YANG *et al.*, 1986; ALCARAZ, 1990; LEE *et al.*, 1995, SUNG *et al.*, 1997), *in vivo* (SHARMA *et al.*, 1991; PADMA *et al.*, 1993; NOSE *et al.*, 1994; GILANI & JANBAZ, 1995; IP *et al.*, 1995; KAPIL, 1995; OKONKWO & MSONTHI, 1995; HASE *et al.*, 1996); *in vivo* correlacionando com análises histopatológicas (JAYATHILAKA *et al.*, 1989; MATSUDA *et al.*, 1991; DE *et al.*, 1994; RUSU *et al.*, 1994; LIN *et al.*, 1996a; LIN *et al.*, 1996b; LIN & SHIEH, 1996; DE *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996c; LIN *et al.*, 1996d, NADEEM *et al.*, 1997) e *in vivo* correlacionando com

as concentrações séricas de bilirrubina (LEXA *et al.*, 1989; MELO *et al.*, 1990; SARAF & DIXIT, 1991; SHARMA *et al.*, 1991; ANAND *et al.*, 1992a; ANAND *et al.*, 1992b; GADGOLI & MISHRA, 1997; RAO & MISHRA, 1997).

A ALT é uma enzima citosólica sendo encontrada primariamente a nível hepático e secundariamente com baixa atividade no coração, músculo esquelético, rins, pâncreas e baço (ZIMMERMAN, 1974; KAPLAN, 1993; HENRY, 1995; ANDERSON & COCKAYNE, 1995). A AST é uma enzima encontrada a nível de citosol e mitocôndrias das células hepáticas, cardíacas, musculares esqueléticas, renais, onde apresentam elevada atividade, e no pâncreas, baço e pulmões, cuja concentração é desprezível (ZIMMERMAN, 1974; KAPLAN, 1993; HENRY, 1995; ANDERSON & COCKAYNE, 1995).

Sabendo-se que a ALT é uma enzima exclusivamente citosólica e a AST citosólica e mitocondrial, pode-se experimentalmente investigar os prováveis locais onde se espera a ação citoprotetora de um determinado extrato ou seus constituintes isolados, na vigência de lesão pelo CCl₄. Geralmente os níveis de AST são mais elevados do que os de ALT, em função da primeira ser encontrada simultaneamente em dois compartimentos biológicos (citosol e mitocôndria) (ANDERSON & COCKAYNE, 1995).

Quando o CCl₄ é administrado por via oral, as membranas de frações celulares dos hepatócitos são lesados por peroxidação lipídica (degradação de ácidos graxos insaturados das membranas) induzida pelo CCl₃[•] e CCl₃OO[•] convertidos pelo citocromo P450 2 E 1, liberando as mais

variadas enzimas de organelas subcelulares, que podem ser analisadas por sua atividade sérica em estudos *in vivo* ou em meios contendo hepatócitos em suspensão (*ex vivo*).

As enzimas dos retículos endoplasmáticos aparecem no soro 12h após a intoxicação com o CCl_4 , atingindo seu pico nas primeiras 24h (esterase microsomal, glicose-6-fosfatase). As enzimas citosólicas (aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase) começam a apresentar-se elevadas no soro 3 h após a intoxicação alcançando seu nível máximo entre 12h e 24 horas. Enzimas mitocondriais tais como ornitina-carbamil transferase, desidrogenase glutâmica, aspartato aminotransferase e malato desidrogenase se elevam significativamente por volta das 6h, com pico entre 12 e 24h. Enzimas nucleares como nicotinamida mononucleotídeo-adeniltransferase e lissomais como a arilsulfatase-B não se mostram alteradas no decurso da peroxidação lipídica induzida pelo CCl_3^\bullet e $\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$ (ZIMMERMAN *et al.*, 1965; CURTIS *et al.*, 1972; ZIMMERMAN, 1974; KAPLAN, 1993).

Analisando-se as figuras e tabelas 1, 6, 11 e 16 pode-se observar acentuada diferença entre a atividade enzimática da ALT entre os grupos controle (somente veículo) e o tratado somente com o CCl_4 , sendo esta, estatisticamente significante ($p < 0,05$). Tais resultados confirmam a existência de lesão pelo CCl_4 sobre as membranas citoplasmáticas dos hepatócitos, visto esta enzima ser encontrada exclusivamente a nível citosólico. Outrossim, comparando-se o comportamento de outra enzima

(AST) entre o grupo controle (somente veículo) e o tratado somente com o CCl_4 , nas figuras e tabelas 2, 7, 12 e 17, visualiza-se também diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos níveis de atividade sérica, confirmando a existência de lesão tanto a nível de membranas citoplasmáticas como de organelas mitocondriais, locais de ocorrência das enzimas supracitadas.

Os níveis de atividade sérica da AST se mostraram mais elevados quando comparados com aos da ALT no grupo controle intoxicado somente pelo CCl_4 . Tal fato no presente protocolo experimental poderia ser justificado na presença desta (AST) em dois compartimentos distintos das células hepáticas (citossol e mitocôndrias) (ANDERSON & COCKAYNE, 1995), como também em outras outros sítios ricos nesta enzima (musculatura estriada esquelética, musculatura cardíaca e tecido renal), e que poderiam ser alvos para a ação lesiva do CCl_4 contribuindo para o incremento nos níveis séricos da AST (ZIMMERMAN, 1974; KAPLAN, 1993; HENRY, 1995; ANDERSON & COCKAYNE, 1995)

8.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A BILIRRUBINA SÉRICA

A bilirrubina é um composto apolar, se constituindo em um ânion orgânico, com um peso molecular de 585 daltons, formado por quatro

anéis pirrólicos substituídos, unidos por três pontes de carbono nos anéis B e C dos grupos oxigênio polares adicionais nos anéis A e D (BERCK, 1991).

O pigmento biliar natural mais abundante nos mamíferos é a bilirrubina-4Z, 15Z-IXalfa (bilirrubina IX α) (BERK, 1991; HENRY, 1995).

A bilirrubina IX α é o metabólito final produto da quebra da ferroprotoporfirina IX presente na hemoglobina e em outros compostos proteicos que contenham o grupamento heme (mioglobina, enzimas respiratórias, etc...)(BERK, 1991; KAPLAN, 1993).

A conversão da ferroprotoporfirina IX em bilirrubina IX α se processa em duas fases: (1) o anel da porfirina se abre mediante uma reação oxidativa intermediada pela enzima microsomal hemeoxigenase hepática, na qual a ponte alfa de carbono é eliminada na forma de monóxido de carbono, dando lugar a formação de biliverdina IX α , (2) e esta última, por redução enzimática da ponte metínica central não saturada através da enzima citosólica biliverdina-redutase origina o substrato final bilirrubina IX α (BERK, 1991).

Aproximadamente 95% da bilirrubina IX α resultante se une de maneira reversível porém estável à fração albumínica e nesta forma circula chegando ao fígado. Esta forma é denominada não conjugada ou indireta sendo insolúvel em água. Outra fração pode ser encontrada em baixas concentrações na corrente sanguínea, e a fração conjugada com o ácido glicurônico, que é reabsorvida pelos hepatócitos durante os processos de

excreção biliar sendo liberada na circulação sistêmica. Esta última se denomina bilirrubina IX α conjugada ou direta, sendo altamente hidrossolúvel (ANDERSON & COCKAYNE, 1995).

O fígado é singularmente adaptado para a captação hepatocelular de substâncias fixadas às proteínas, uma vez que as células endoteliais sinusoidais têm grandes poros que permitem que o complexo bilirrubina IX α -albumina penetre no espaço de Disse e entre diretamente em contato com as membranas plasmáticas sinusoidais das células hepáticas (BERK, 1991; HENRY, 1995).

Uma vez em contato com as células sinusoidais, a bilirrubina IX α é transportada mediante quatro processos diferentes, mas que são relacionados entre si: (1) captação hepatocelular da bilirrubina IX α ligada a albumina que ocorre no momento em que este complexo interagindo com a superfície das células sinusoidais, sofre mudanças na sua conformação e favorece a liberação de seu ligante; (2) fixação intracelular às proteínas, principalmente a ligandina (glutatião-S-transferase B), proteína esta que apresenta duas funções, a primeira de retardo da saída do pigmento não biotransformado do interior do hepatócito e a segunda de aumento da solubilidade deste elemento, haja visto a a baixa solubilidade em soluções aquosas, e que se não ocorresse, poderia se precipitar no interior do hepatócito causando lesões celulares; (3) conjugação com o ácido glicurônico, intermediado pela enzima microsomal bilirrubina-uridinodifosfato-glicuroniltransferase, com o objetivo de converter este

composto altamente lipossolúvel em um metabólito mais hidrófilo, solúvel e excretável, através da esterificação de uma ou das duas cadeias laterais de ácido propiônico, e, uma vez conjugado, estar mais apto a se complexar com o transportador de membrana que o excreta mediante gasto energético para o lúmen canicular. No rato o principal conjugado de bilirrubina IX α é o β -D-glicuronídeo (forma diglicuronídica), que constitui 70-90% dos pigmentos da bile, (4) e finalmente a excreção biliar, através da secreção do diglicuronídeo de bilirrubina para os canalículos biliares por intermédio do transportador de ânion orgânico multiespecífico (cMOAT) (BERK, 1991; DeLEVE & KAPLOWITZ, 1995; HENRY, 1995; KAPLAN, 1995).

Portanto a bile produzida nos hepatócitos é secretada nos canalículos biliares e estes, por sua vez, coalescem para formar os primeiros ductulos e posteriormente, um ducto hepático principal que emerge de cada lobo principal no hepatis portal. O ducto biliar comum é formado pela união destes ductos menores e atravessa a superfície ventral do pâncreas para atingir o duodeno, onde este se abre dentro do lúmen. Um aspecto interessante é que o rato não tem vesícula biliar sendo o fluxo da bile ininterrupto (SANTOS, 1996).

A hiperbilirrubinemia total e direta poderá estar anormalmente elevada resultante de: (1) síntese elevada; (2) descompasso entre a captação, fixação, conjugação ou excreção do pigmento ou (3) da regurgitação de formas conjugadas e não conjugadas de bilirrubina IX α mediante lesão dos hepatócitos ou ductos biliares se constituindo num

importante marcador da funcionalidade hepática (KISS, 1982; BERK, 1991; HENRY, 1995; KAPLAN, 1995).

A determinação das concentrações de bilirrubina total e direta $IX\alpha$ se configuram como métodos bioquímicos de utilidade no diagnóstico de enfermidades hepáticas tais como icterícia fisiológica neonatal, Síndrome de Crigler-Najjar tipo I e II, Síndrome de Gilbert, Síndrome de Dubin-Johnson, Síndrome de Rotor, Síndrome de armazenamento hepático, colestase intrahepática, colestase extrahepática e lesões hepatocelulares agudas e crônicas (ANDERSON & COCKAYNE, 1995).

Em ensaios de toxicidade hepática estes pigmentos tetrapirrólicos tem sido utilizados como marcadores bioquímicos na investigação hepatoprotetora de extratos vegetais ou seus princípios isolados em protocolos experimentais utilizando o CCl_4 *in vivo* correlacionando com a atividade das aminotransferases (LEXA *et al.*, 1989; MELO *et al.*, 1990; SARAF & DIXIT, 1991; SHARMA *et al.*, 1991; ANAND *et al.*, 1992a; ANAND *et al.*, 1992b; GADGOLI & MISHRA, 1997; RAO & MISHRA, 1997).

Esta bem documentado que a lesão hepática induzida pelo CCl_4 proporciona elevação nos níveis séricos de bilirrubina total $IX\alpha$, em função desta hepatotoxina induzir a necrose hepatocelular e colestase em inúmeros protocolos experimentais (MORAZZONI & BOMBARDELLI, 1995; MOSELEY, 1996), alcançando níveis máximos após 12 h do início da lesão em ratos (SEKAS & COOK, 1979). Observando-se as figuras e tabelas 3, 6, 9 e 12

constata-se diferenças estatisticamente significantes nas concentrações deste pigmento ($p < 0,05$) entre o grupo controle (veículo) e o tratado somente com o CCl_4 , revelando a existência de lesão aguda. Tal distúrbio seria decorrente de alterações morfofuncionais na captação e permeabilidade hepatocelular das células sinusoidais, fruto da peroxidação lipídica induzida pelo radical CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$), que acarretariam a redução da entrada de bilirrubina IX_α para o interior das células sinusoidais assim como proporcionaria o extravasamento do pigmento captado do interior do hepatócito. Outro fator que cooperaria para níveis elevados deste pigmento seria a redução da energia intracelular disponível na forma de ATP, decorrente da lesão mitocondrial (VAN DER VUSSE & RENEMAN, 1985), para a realização dos processos intermediados por enzimas na fixação intracelular (glutatião-S-transferase B), conjugação (bilirrubina-uridinodifosfato-glicuroniltransferase) e carreamento (transportador de ânion multiespecífico - cMOAT) do pigmento conjugado para a luz do tracto biliar. É importante ressaltar que os metabólitos da peroxidação lipídica induzida pelo radical CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$) originam outros metabólitos reativos, como o malondialdeído (MDA), que é capaz de interagir com grupos funcionais tiólicos e aminos das proteínas funcionais desnaturando-as (DROY-LEFAIX et al, 1995).

Seguindo os gráficos e tabelas 4, 8, 12 e 16 nas dosagens de bilirrubina direta, não encontrou-se diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle NaCl 0,9% e o grupo tratado somente com o CCl_4 ,

tendo em vista a diminuição dos processos de captação, fixação e conjugação do pigmento circulante.

8.4. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

Esta bem documentado a toxicidade do CCl_4 intermediado pelas enzimas oxidativas de Fase I, presentes nos retículos endoplasmáticos dos hepatócitos, denominadas citocromo P 450 2 E 1 (RECKNAGEL *et al.*, 1989; WATKINS, 1992) que induzem a formação de entidades reativas e tóxicas, o triclorometil (CCl_3^*) e seu radical peroxi derivado (CCl_3OO^*) (CASARETT & DOULL, 1986; KAPLAN, 1993).

O CCl_3^* e seu peroxi derivado (CCl_3OO^*) são radicais livres que induzem a peroxidação dos ácidos graxos insaturados presentes nas membranas citoplasmáticas dos hepatócitos e de suas organelas intracelulares, alterando o citoesqueleto, a morfofuncionalidade mitocondrial, a homeostase iônica, além da ativação e liberação de enzimas catalíticas intracelulares.

As moléculas de CCl_3^* e seu peroxi derivado (CCl_3OO^*) são entidades que apresentam número ímpar de elétrons na camada de valência, ou seja, são espécies químicas altamente reativas que possuem elétrons não pareados em seus orbitais mais externos (PERCÁRIO *et al.*, 1992).

A agressão inicial do CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$) sobre as membranas celulares dos fosfolipídeos dos hepatócitos é decorrente, à existência de insaturação entre os carbonos das cadeias de ácidos graxos, duplas ligações estas que facilitam o deslocamento de elétrons livres, que por sua vez são avidamente capturado pelos radicais livres CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$) formando pares através um de seus elétrons desapareados com o elétron livre deslocado da dupla ligação em um determinado segmento da cadeia hidrocarbonetada do ácido graxo membranar (SOUTHORN & POWIS, 1988).

Os radicais livres CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$) captando um átomo de hidrogênio de um locus da cadeia graxa insaturada, convertem este último em radical livre, e este interagindo com o oxigênio (O_2), é convertido radical peroxi lipídico (ROO^\bullet), que desprende-se da cadeia hidrocarbonetada. Este lipídio peroxidado (ROO^\bullet) atua em outro segmento íntacto e insaturado da cadeia lipídica com conseqüente formação de um hidroperóxido instável (ROOH), enquanto que o novo radical peróxido lipídico (ROO^\bullet) formado poderá recomençar um novo ciclo. Esta reação em cadeia, resultante do ataque de lipídeos de membrana pelo CCl_3^\bullet e seu peroxi derivado ($\text{CCl}_3\text{OO}^\bullet$), constitui-se no fenômeno de peroxidação lipídica (MAK et al, 1996). Os hidroperóxidos (ROOH) são convertidos em radicais alcoxi (RO^\bullet) na presença de Fe^{++} , reiniciando também uma nova cadeia peroxidativa. Os hidroperóxidos (ROOH) são igualmente degradados a muitos produtos secundários, tais como alcanos, alcoóis, aldeídos, ácidos e

carbonilas. Muitos destes produtos secundários, principalmente o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (4-HN) são, em si, altamente reativos (DROY-LEFAIX *et al.*, 1995; OSAWA, 1995). Os peróxidos lipídicos formados e seus subprodutos por apresentarem toxicidade direta sobre as células e organelas induzem a quimiotaxia neutrofílica e ativação de citocinas e fosfolipases (DROY-LEFAIX *et al.*, 1995; RONALD & HOFFENBERG, 1996)

O malondialdeído (MDA) em particular, é capaz de interagir com grupos funcionais tiólicos e aminos das proteínas (enzimas celulares, proteínas carreadoras, proteínas de canais iônicos) podendo por esta via serem oxidadas e inativadas, acarretando graves alterações do metabolismo celular dos hepatócitos (DROY-LEFAIX *et al.*, 1995).

A fragilidade anormal induzida artificialmente pela peroxidação lipídica dos lisossomos acarretaria também a liberação de enzimas proteolíticas que agravariam o dano hepático. Um aspecto interessante é que a fragilidade lisossomal induzida pelo CCl_4 simula inúmeras condições patológicas do fígado onde se observa participação singular desta organela e seu conteúdo, como a hepatite fibrótica e cirrótica, intoxicação aguda pelo etanol, hepatite aguda, desordens do trato biliar e a hepatite viral (NIEBES & PONARD, 1975).

Os ácidos nucleicos também poderão se constituir alvos críticos para a ação de radicais livres formados pelo CCl_3^* e seu peroxi derivado (CCl_3OO^*), haja visto a existência de vários sítios de interação de radicais

livres com o ácido desoxirribonucléico a nível bases purínicas e pirimidínicas. A ligação dos radicais livres entre as bases supracitadas provocam o rompimento das alças de DNA produzindo sua desnaturação, o que ocasiona graves consequências sobre a replicação gênica, bem como sobre a síntese proteica do hepatócito (DROY-LEFAIX *et al.*, 1995; RONALD & HOFFENBERG, 1996).

Em ensaios de toxicidade hepática pelo CCl₄ parâmetros semi-quantitativos tais como grau de esteatose, necrose e tumefação turva dos hepatócitos são utilizados como marcadores histológicos na investigação hepatoprotetora de extratos ou seus princípios ativos isolados em protocolos utilizando o CCl₄ *in vivo* correlacionando com a atividade enzimática das aminotransferases (JAYATHILAKA *et al.*, 1989; MATSUDA *et al.*, 1991; FIGUEIREDO *et al.*, 1992; DE *et al.*, 1994; RUSU *et al.*, 1994; LIN *et al.*, 1996a; LIN *et al.*, 1996b; LIN & SHIEH, 1996; DE *et al.*, 1996; LIN *et al.*, 1996c; LIN *et al.*, 1996d, SHIRWAIKAR *et al.*, 1996; NADEEM *et al.*, 1997).

Analisando-se a lâmina 1 (controle NaCl 0,9%) observa-se o parênquima hepático normal apresentando a veia central, cordões das células hepáticas e sinusóides sem quaisquer tipos de alterações.

As lâminas 2 e 3 (controle somente CCl₄), permitem visualizar de maneira acentuada a intensa esteatose ou infiltração gordurosa na forma de pequenos vacúolos claros dentro das células parenquimatosas decorrente do acúmulo de gotículas de gordura (esteatose microvesicular), fenômeno característico de formas agudas de intoxicação hepática (ZIMMERMAN,

1979). O principal mecanismo responsável seria a cascata de eventos que acompanham a peroxidação lipídica induzida pelo radical livre CCl_3^* e seu derivado peroxi (CCl_3OO^*). Sabe-se que o CCl_4 é capaz de afetar a síntese proteica hepática, visto que os retículos endoplasmáticos ao sofrerem a ação catalítica de peróxidos orgânicos formados neste processo teriam a sua competência funcional prejudicada (DROY-LEFAIX *et al.*, 1995; RONALD & HOFFENBERG, 1996), associados a clivagem da cromatina induzida por endonucleases ativadas (TSOKOS-KUHN, 1989). Portanto o acúmulo de lipídeos visualizados nas lâminas 2 e 3 seriam decorrentes da incapacidade da célula hepática em sintetizar lipoproteínas a partir de triglicerídios e “proteínas aceptoras de lipídios” a nível de retículos, tendo como consequência o acúmulo de gorduras no interior do hepatócito (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996).

Outro parâmetro analisado no presente trabalho foi a necrose (lâmina 4 e 5). Esta manifestou-se de forma moderada no grupo intoxicado somente com o CCl_4 . Ao longo da veia central nas lâminas 4 e 5 observa-se grupamentos de células mortas destituídas de núcleo e substrato genético. Sabe-se que o acúmulo intracelular de cálcio induzido pela peroxidação lipídica é capaz de ativar várias enzimas de membranas tais como fosfolipases, protetases, ATPases, endonucleases, associadas a liberação de enzimas catalíticas lisossomais da própria célula que podem conduzir a autólise e a heterólise (liberação de enzimas lisossomais de

polimorfonucleares) (STEVENS & LOWE, 1996). Portanto a morte celular adviria em decorrência da peroxidação lipídica que desintegraria o citoesqueleto, alteraria a morfuncionalidade mitocondrial, membranas e ativaria várias enzimas catabólicas (DeLEVE & KAPLOWITZ, 1975; RECKNAGEL *et al.*, 1989; STEVENS & LOWE, 1996).

Na lâmina 6 observa-se intensa tumefação turva do hepatócito pode ser visualizado na lâmina 6 no grupo tratado apenas com o CCl₄. Esta manifestação histopatológica, geralmente é a primeiro indicativo de lesão às células hepáticas (COTRAN *et al.*, 1996). Está documentado que algumas alterações ultra-estruturais colaboram para tal manifestação: (1) modificações de membrana citoplasmática, tais como bolhas, projeções e distorção de microvilosidades, criação de figuras mielínicas e afrouxamento das ligações intercelulares; (2) alterações mitocondriais, incluindo tumefação, rarefação e surgimento de pequenas densidades amorfas ricas em fosfolípídeos; (3) dilatação do retículo endoplasmático com descolamento e desagregação de polissomos e (4) alterações nucleolares, com desagregação de elementos granulares e fibrilares (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996).

A depleção de ATP é o principal responsável por tal evento, sendo que esta produz um distúrbio da regulação do volume celular pela membrana citoplasmática. A falta de energia devido à diminuição da concentração de ATP mitocondrial causado pelo aumento da concentração

intracelular do íon cálcio associado ao aumento da atividade das ATPases, faz com que o sódio se acumule intracelularmente por redução da atividade da bomba Na^+K^+ ATPase, juntamente com o Cl^- , concorrendo com este fenômeno a difusão de potássio para o meio extracelular. O ganho osmótico de água, crescimento celular e dilatação do retículo endoplasmático elevaria a pressão colóidial osmótica do hepatócito, fenômeno este que pode ser visualizado microscopicamente na lâmina 6 pela formação de vesículas translúcidas no parênquima hepático.

8.5. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES QUÍMICAS QUALITATIVAS

Analisando-se a tabela 17, que descreve a análise química qualitativa dos EHEs de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V., visualiza-se resultados positivos para a presença de alcalóides para todas as espécies pesquisadas. Tais resultados são concordantes com os encontrados na literatura levantada para o *Solanum paniculatum* L. (COIMBRA, 1942; SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; WEILER *et al.*, 1980; SANTOS, 1996), *Solanum variabile* M. (WEILER *et al.*, 1980), *Solanum nigrum* L. (RIDOUT *et al.*, 1989; DOEPKE, 1987; VIEIRA & FREIRE DE CARVALHO, 1993) e *Solanum cernuum* V.

(PECKOLT, 1908; BRIGGS & CAMBIE, 1958; SIQUEIRA-JACCOUD, 1963, VILEGAS *et al.*, 1990).

Os alcalóides na sua forma glicoalcaloídica ou esteroideal são entidades descritas na literatura como possuidoras de atividade hepatoprotetora em modelos de hepatotoxicidade utilizando o CCl₄.

LIN *et al.*, 1988, analisaram o efeito de constituintes químicos isolados dos frutos de *Solanum incanum* sobre lesões induzidas em camundongos pelo CCl₄, tendo como parâmetros de proteção, o tempo de sono induzido pelo pentobarbital e a atividade das enzimas séricas ALT e AST. Administrando solasodina (3 mg.kg⁻¹), solamargina (1 mg.kg⁻¹) e solasonina (0,1 mg.kg⁻¹) por via oral, constataram atividade hepatoprotetora sobre a citotoxicidade induzida em dose única pelo CCl₄ (i.p.) nos parâmetros tempo de sono e atividade sérica da ALT e AST, em estudo *in vivo*.

Em outro trabalho LIN & GAN, 1989, avaliaram o efeito de dois alcalóides esteroidais (etiolina e isoteinemina) e um alcalóide glicosídico esteroideal (capsicastrina) obtidos das casca das raízes de *Solanum capsicastrum*. Administrando por via oral os glicoalcalóides isolados desta solanácea (capsicastrina - 0,1 e 3 mg.kg⁻¹; acetato de capsicastrina - 3,0 mg.kg⁻¹; acetato de isoteinemina - 0,1 e 3,0 mg.kg⁻¹; acetato de isoteinemina - 0,1 e 3,0 mg.kg⁻¹; etiolina - 3,0 mg.kg⁻¹), produziram índices de atividade hepatoprotetora em todas as doses utilizadas em camundongos intoxicados pelo CCl₄ (i.p.) tendo como marcadores as enzimas ALT e AST.

NADEEM *et al.*, 1997, analisaram o efeito hepatoprotetor do extrato bruto etanólico e do éter de petróleo obtidos a partir dos frutos de *Solanum nigrum* L. sobre lesões hepáticas induzidas pelo CCl₄. Neste trabalho, foram identificados qualitativamente alcalóides. Como indicadores da morfologia e atividade hepática utilizou-se análises histopatológicas (esteatose e necrose), bioquímicas (ALT, AST, fosfatase alcalina, fosfatase ácida), além de determinações do glutatião hepático e da atividade da glutatião transferase. A fração etanólica e a derivada do éter de petróleo foram capazes de exibir hepatoproteção em decorrência da redução dos níveis séricos na atividade da ALT, fosfatase alcalina, fosfatase ácida, assim como na restauração dos níveis de glutatião hepático depletados pelo CCl₄, nas doses de 5, 10 e 20 g.kg⁻¹, resultados estes concordantes com os achados histopatológicos de redução na necrose e esteatose nos animais tratados com os extratos obtidos desta Solanácea.

De acordo com os trabalhos revistos, os possíveis mecanismos responsáveis pelo efeito protetor de extratos contendo alcalóides seria decorrentes de suas ações antiperoxidativas lipídicas associadas a capacidade destes compostos químicos em varrer radicais livres do oxigênio (LIN *et al.*, 1988; LIN & GAN, 1989; NADEEM *et al.*, 1997).

Pelo fato de terem sido identificados nas espécies estudadas, alcalóides com atividade hepatoprotetora, *Solanum paniculatum* L - solasodina e solamargina (WEILER *et al.*, 1980; SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996), *Solanum variabile* M. - solasodina (WEILER *et al.*,

1980), *Solanum nigrum* L. - solasonina, solamargina (RIDOUT *et al.*, 1989) - solasodina (VIEIRA & FREIRE DE CARVALHO, 1993) e *Solanum crenumum* V. - solamargina (BRIGGS & CAMBIE, 1958; VILEGAS *et al.*, 1990) - solasonina (VILEGAS *et al.*, 1990), esperava-se observar através da análise dos marcadores de lesão hepática, efeitos citoprotetivos destas espécies, em virtude da constituição química encontrada na literatura e confirmada qualitativamente em nossos resultados.

Dando continuidade a análise da tabela 17, resultados positivos para flavonóides foram obtidos para todas as espécies analisadas. São inúmeros os trabalhos que descrevem a ação hepatoprotetora destas substâncias químicas em protocolos utilizando o CCl₄ (WAGNER *et al.*, 1986; HOUGHTON & HIKINO, 1989; JAYATHILAKA *et al.*, 1989; LEXA *et al.*, 1989; ALCARAZ *et al.*, 1990; MELO, 1990; ANAND *et al.*, 1992a; ANAND *et al.*, 1992b; HOFFMAN-BOHM *et al.*, 1992; DE *et al.*, 1994; RUSU *et al.*, 1994; GILANI & JANBAZ, 1995a; GILANI & JANBAZ, 1995b; LEE *et al.*, 1995; UBEDA *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 1996), sendo o mecanismo antihepatotóxico destas entidades fitoterápicas elucidado (ação antioxidante, varredora de radicais livres do oxigênio e antilipoperoxidante de membranas biológicas) (ALCARAZ *et al.*, 1990; UBEDA *et al.*, 1995; GILANI & JANBAZ, 1995a; GILANI & JANBAZ, 1995b).

Dentre os compostos químicos levantados na literatura e associados com as espécies estudadas no presente trabalho, chamou-nos a atenção os flavonóides quercetínicos 3-O-β-glicosil-β-galactosídeo e o 3-O-

α -ramnosil- β -galactosídeo encontrados na espécie *Solanum nigrum* L. (NAWWAR *et al.*, 1989).

ALCARAZ *et al.*, 1990, analisou o efeito inibidor de alguns flavonóides, entre eles, um flavonóide quercetínico (quercetina), sobre a formação de radicais livres e a peroxidação lipídica de biomembranas induzido pelo CCl₄ em meio de cultura contendo hepatócitos isolados. Como marcadores da lesão citotóxica, avaliou-se a atividade da alanina aminotransferase liberada no meio de cultura pelos hepatócitos tratados com CCl₄ (10 mM) por 90 minutos a 37°C, por 10 minutos. A adição de quercetina (2 mM) exibiu proteção contra a citotoxicidade do CCl₄, expressos em porcentagem de proteção na ordem de 42,82% quando comparados ao controle só CCl₄.

UBEDA *et al.*, 1995, analisaram a capacidade de uma série de flavonóides, entre eles a quercetina, em inibir enzimaticamente e não enzimaticamente a peroxidação lipídica induzida pela incubação de microsossomos hepáticos na presença de um sistema gerador-NADPH (0,3 mM NADP, 6,4 mM glicose-6-fosfato e 0,67 unidades de glicose-6-fosfato desidrogenase). Procurando-se determinar a atividade da enzima anilina hidroxilase, metabolizando a anilina, determinou-se colorimetricamente a formação do *p*-aminofenol (min.mg de proteína⁻¹). O método não enzimático foi conduzido no presente estudo, procurando-se analisar a peroxidação lipídica sobre as concentrações ativas de citocromo P₄₅₀ oriundos de microsossomos hepáticos. Para tanto estes foram incubados na presença de

um sistema gerador-NADPH, e a peroxidação lipídica determinada pela detecção de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico expressas em nmol de malondialdeído.mg de proteína gerado em 60 minutos⁻¹. Neste estudo a quercetina se mostrou potente inibidor da atividade da enzima anilina hidroxilase (43,8%), tendo no teste de incubação de microsossomos contendo citocromo P₄₅₀ evitado a modificação desta proteína, pela inibição de sua peroxidação lipídica.

Em outro trabalho, SUNG *et al.*, 1997, procuraram avaliar os efeitos de dois flavonóides quercetínicos, o 3-O-β-D-glicoranopiranosídeo e a quercetina-3-O-β-D-glicoranopiranosídeo metil éster sobre os níveis de atividade da alanina aminotransferase, sorbitol desidrogenase, glutatião-S-transferase, glutatião dissulfato redutase além das determinações do conteúdo de glutatião e proteínas em culturas de hepatócitos expostos a 10 mM de CCl₄/etanol (0,01mL) por 1 hora. Como resultados observou-se uma redução induzido por estes dois flavonóides nos níveis de ALT liberada dos hepatócitos intoxicados. O nível de hepatoproteção esteve em na ordem de 78% e 82% respectivamente para estes flavonóides quando comparados ao controle só CCl₄. Achados na redução da citotoxicidade também foram comprovados pela diminuição da liberação da enzima sorbitol desidrogenase, resultando em um bloqueio da lesão na ordem de 76% e 83% respectivamente. Outrossim estes flavonóides incrementaram a atividade da enzima glutatião-S-transferase nos hepatócitos injuriados, reduzindo em 68% e 86% a citotoxicidade intermediada pelo CCl₄. Finalmente

estes compostos químicos exibiram a competência de preservar os níveis de glutatião nos hepatócitos tratados na ordem de 46% e 52% quando comparados ao grupo só tratado com CCl₄.

Como em nossos estudos identificamos qualitativamente flavonóides, sendo elemento presente em todas as espécies analisadas, tinha-se esperança de se obter algum extrato com atividade hepatoprotetora, principalmente da espécie *Solanum nigrum* L., identificada como portadora de dois alcalóides quercetínicos (NAWWAR *et al.*, 1989).

As saponinas foram identificadas qualitativamente observando-se a tabela 17, estando presentes em todas as espécies investigadas. Estas entidades químicas estão relatadas na literatura como agentes hepatoprotetores em lesões induzidas pelo CCl₄, o que interessou-nos pelos possíveis efeitos protetores no presente estudo.

HIKINO *et al.*, 1985, analisaram o efeito antihepatotóxico de inúmeras saponinas obtidas dos rizomas do *Panax ginseng*, em modelo de utilizando o CCl₄ como citotoxina, induzindo lesão em culturas primárias de hepatócitos. Após 24 horas de incubação meios contendo hepatócitos de ratos recebiam o CCl₄ e as respectivas saponinas (0,01; 0,1 e 1,0 mg.mL⁻¹) adicionadas sendo os valores de atividade de alanina aminotransferase determinada como marcador da lesão citotóxica. As saponinas ensaiadas 20(R)-ginsenoside-Rs, 20(S)-ginsenoside-Rs, 20(R)-ginsenoside-Rh₂, 20(R)-ginsenoside-Rg₃, 20(R)-ginsenoside-Rg₂, 20(S)-ginsenoside-Rg₃, 20(S)-ginsenoside-Rh₁, 20(S)-ginsenoside-Rf, foram competentes em reduzir

estatisticamente a lesão citotóxica levada a cabo pelo CCl_4 quando comparado ao grupo incubado somente com a hepatotoxina, sendo este efeito justificado pela ação destas a nível de membranas de hepatócitos e na prevenção da transformação das células hepáticas em hepatomas.

MATSUDA *et al.*, 1991, estudaram os efeitos da saponina Ginsenoside Ro em modelos de lesão hepática, *in vivo*, induzido por diversas toxinas, entre elas o CCl_4 , motivados pelos resultados preliminares obtidos por HIKINO *et al.* (1985). Esta saponina no presente estudo foi capaz de atenuar o incremento dos níveis de ALT e AST nas doses de 50 e 200 mg.kg^{-1} observados na indução de hepatite aguda promovida pelo CCl_4 (i.p.) e de reduzir a formação de tecido conectivo (fibrose) no tratamento crônico de ratos pela inalação do gás de CCl_4 por 15 minutos/dia, três vezes por semana, por oito semanas.

NOSE *et al.*, 1994, estudaram a atividade hepatoprotetora da saponina glicirizina utilizando-se o CCl_4 em método de ensaio *ex vivo*. No teste de citotoxicidade induzido em culturas primárias de hepatócitos, esta saponina (5 a 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) foi capaz de prevenir a lesão citotóxica a partir dos achados obtidos nas determinações de atividade das aminotransferases (ALT e AST) liberadas pelos hepatócitos no meio de cultura. O possível mecanismo aventado no presente estudo para o efeito citoprotetor estaria presumivelmente associado a uma ação inibitória na geração de radicais livres do oxigênio assim como a varredura destes.

Analisando-se em particular os constituintes químicos descritos na espécie *Solanum nigrum* L., encontra-se a identificação de um glicosídeo, o β -sitosterol (HANNA *et al.*, 1996).

LIN & TOME, 1988, testaram *in vivo*, constituintes extraídos das folhas da espécie *Sambucus formosana* Nakai, dentre eles o glicosídeo β -sitosterol, na forma de benzoato, utilizando-se o CCl_4 em protocolo de hepatotoxicidade em camundongos. Como marcadores de atividade hepática determinou-se o tempo de sono induzido pelo pentobarbital além da determinação das aminotransferases sérica. As unidades experimentais tratadas com o β -sitosterol neste estudo apresentaram índices de lesão hepática inferiores aos tratados somente com a hepatotoxina em todos os parâmetros analisados.

O levantamento da literatura revelou outros trabalhos com plantas medicinais contendo o β -sitosterol protegendo de lesões hepáticas induzidas pelo CCl_4 *in vivo* (ANAND *et al.*, 1992; DE *et al.*, 1994).

Um aspecto interessante arrolado na bibliografia consultada, é sobre a presença de algumas vitaminas nas folhas da espécie *Solanum nigrum* L., tais como o β -caroteno e a vitamina C (NADEEM *et al.*, 1997). Estas vitaminas são compostos antioxidantes, podendo inativar radicais livres gerados no organismo. A vitamina C quando associada a E (vitamina de membrana) pode seqüestrar e anular os radicais livres do oxigênio. Trabalhos têm mostrado que o β -caroteno, um pigmento encontrado em

todas as plantas fotossintéticas também pode exibir atividade antioxidante, prevenindo lesões celulares induzidas pela geração de radicais livres (YUYAMA & COZZOLINO, 1994; GILANI & JANBAZ, 1995b).

Quando da análise da revisão bibliográfica sobre os compostos químicos da espécie *Solanum cernuum* V., SIQUEIRA-JACCOUD, 1963, descreve a presença de ácido clorogênico. KAPIL *et al.*, 1995, isolou o ácido clorogênico das folhas da espécie *Anthocephalus cadamba*, e realizou uma bateria de ensaios toxicológicos *in vivo* e *ex vivo* utilizando o CCl₄ (i.p.) como toxina padrão. A administração intraperitoneal de ácido clorogênico em camundongos na dose de 100 mg.kg⁻¹ de peso corporal por oito dias consecutivos causou uma significativa reversão na peroxidação lipídica (formação de malondialdeído), liberação de enzimas intracelulares (ALT, fosfatase alcalina), inativação de enzimas oxidativas (citocromo P450), além de um incremento na produção dos sistemas de defesa endógeno contra radicais livres (glutatião, atividade enzimática da glutatião-S-transferase). Os resultados revelaram que o principal mecanismo envolvido pela hepatoproteção apresentado pelo ácido clorogênico seria decorrente de sua ação antioxidante.

Outros ensaios de hepatotoxicidade intermediado pelo CCl₄ *in vivo* utilizando plantas que entre vários constituintes figuravam o ácido clorogênico se mostraram efetivos na inibição do dano hepático (LEXA *et al.*, 1989; RUSU *et al.*, 1994).

Visualizando-se finalmente a tabela 17, observa-se a identificação química de taninos para as espécies *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M. e *Solanum nigrum* L. Estes compostos químicos tem estado presentes em algumas espécies de plantas que exibiram atividade hepatoprotetora *in vivo* utilizando o CCl₄ em protocolos de hepatotoxicidade (GILANI & JANBAZ, 1995b; NADEEM *et al.*, 1997), sendo um dos taninos clássicos com atividade antioxidante, a casuarinina, obtida da planta inteira *Osbeckia chinensis* (OSAWA, 1995).

8.6. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HISTOPATOLÓGICAS NOS ANIMAIS TRATADOS COM *Solanum paniculatum* L.

A literatura abordada sobre a espécie *Solanum paniculatum* L., revelou a presença de inúmeros alcalóides (COIMBRA, 1942; WEILER *et al.*, 1980; SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996), dentre estes o glicocalcalóide solasodina (WEILER *et al.*, 1980) e solamargina (SIQUEIRA-JACCOUD *et al.*, 1982; SANTOS, 1996) foram que comprovadamente exibiram atividade hepatoprotetora em modelo *in vivo* utilizando o CCl₄ (LIN *et al.*, 1988).

Achados químicos qualitativos em nosso estudo também indentificou a presença de flavonóides, saponinas e taninos (tabela 17),

entidades químicas de reconhecida atividade hepatoprotetora (HIKINO *et al.*, 1985; WAGNER *et al.*, 1986; HOUGHTON & HIKINO, 1989; JAYATHILAKA *et al.*, 1989; LEXA *et al.*, 1989; ALCARAZ *et al.*, 1990; MELO, 1990; MATSUDA *et al.*, 1991; ANAND *et al.*, 1992a; ANAND *et al.*, 1992b; HOFFMAN-BOHM *et al.*, 1992; DE *et al.*, 1994; NOSE *et al.*, 1994; RUSU *et al.*, 1994; GILANI & JANBAZ, 1995a, GILANI & JANBAZ, 1995b; LEE *et al.*, 1995; OSAWA, 1995; UBEDA *et al.*, 1995; LIN *et al.*, 1996; NADEEM *et al.*, 1997).

Diante destas observações esperava-se ações benéficas deste extrato nos regimes de doses utilizados sobre valores bioquímicos e histopatológicos.

Levando-se em consideração a análise da figura 1, onde aparecem os valores de atividade enzimática das ALT (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais os EHEs de *S. paniculatum* L. nas doses de 0,5 e 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valores na ordem de 289,53±57,35 e 446,31±156,44 foram encontrados respectivamente, não evidenciando porém diferenças estatisticamente significante (p>0,05), quando comparados ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (367±12,01). Outrossim, a tabela 1 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora em porcentagem, a partir de valores de atividade enzimática da ALT entre os diferentes grupos tratados, indicou valores de hepatoproteção positivos para a dose de 0,5 mg.kg⁻¹ (22,4%) e negativos para a dose de 1,0 mg.kg⁻¹ (-22,7%).

Analisando-se a figura 2, onde aparecem os valores de atividade enzimática das AST (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais os EHEs de *S. paniculatum* L. nas doses de 0,5 e 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valores na ordem de 661±64,68 e 758,54±145,79 foram encontrados respectivamente, não evidenciando porém diferenças estatisticamente significante ($p>0,05$), quando comparados ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (704,5±35,36). Outrossim, a tabela 2 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, a partir de valores de atividade enzimática da AST entre os diferentes grupos tratados, também indicou valores de hepatoproteção positivos para a dose de 0,5 mg.kg⁻¹ (6,56%) e negativos para a dose de 1,0 mg.kg⁻¹ (-8,22%).

Dando continuidade às análises bioquímicas, agora visualizando-se a figura 3, onde aparecem os valores de concentração sérica de bilirrubina total ($\mu\text{mol.L}^{-1}$), relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais os EHEs de *S. paniculatum* L. nas doses de 0,5 e 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valores na ordem de 23,27±1,3^{9*} e 21,04±1,65^{9*} foram obtidos respectivamente, evidenciando diferenças estatisticamente significante ($p<0,05$), quando comparados ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (10,24±0,81), indicando um aumento da citotoxicidade hepática na associação CCl₄/EHEs. Outrossim, a tabela 3 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exibe a partir de valores de concentração sérica de bilirrubina total entre os diversos grupos tratados, valores de

hepatoproteção negativos para ambas as doses (-258%) e (-213%) respectivamente.

Na figura 4 dos resultados bioquímicos, observa-se os valores de concentração sérica de bilirrubina direta ($\mu\text{mol.L}^{-1}$), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais os EHEs de *S. paniculatum* L. nas doses de 0,5 e 1,0 g.kg^{-1} de peso corporal, na ordem de $3,37 \pm 0,34^{a*}$ e $3,45 \pm 0,45^{a*}$ respectivamente, evidenciando diferenças estatisticamente significante ($p < 0,05$), quando comparados ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($2,56 \pm 0,47$), acompanhando o comportamento citotóxico observado nas determinações de bilirrubina total. Outrossim, a tabela 4 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exhibe a partir de valores de concentração sérica de bilirrubina direta, negativos para hepatoproteção em ambas as doses (-81,81%) e (-101,01%) respectivamente.

Sabendo-se que a hiperbilirrubinemia total e direta poderá estar anormalmente elevada resultante de: (1) síntese elevada; (2) descompasso entre a captação, fixação, conjugação ou excreção do pigmento ou (3) da regurgitação de formas conjugadas e não conjugadas de bilirrubina $\text{IX}\alpha$ mediante lesão dos hepatócitos ou ductos biliares (KISS, 1982; BERK, 1991; KAPLAN, 1995; HENRY, 1995), chega-se a conclusão de que associação EHEs associado ao CCl_4 interferiu em algum mecanismo aventado acima, pois quando os extratos foram administrados isoladamente (controles - EHE), valores bioquímicos ficaram dentro dos limites de normalidade (tabela 3 e 4).

Mediante a consideração (3), tinha-se esperança de se observar menor lesão dos ductos biliares pelo CCl_4 , com eventual atividade colerética do EHE nas doses utilizadas ($0,5$ e $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$), apesar de SANTOS *et al.*, 1996, terem conduzido um estudo onde procurando avaliar o efeito colerético do extrato aquoso obtido a partir das raízes de *S. paniculatum* L., no fluxo biliar em ratos, não encontrarem valores estatisticamente significantes entre grupo tratado ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$, *p.o.*) com o extrato e o controle salina. O mesmo SANTOS *et al.*, 1996, testaram também em outro trabalho o extrato aquoso obtido das raízes agora em cobaias, também não encontrando valores estatisticamente significativos no que diz respeito ao incremento do fluxo biliar na dose utilizada ($0,5 \text{ g.kg}^{-1}$, *p.o.*), descartando este efeito benéfico na atividade funcional excretória de bile.

Analisando-se os resultados histopatológicos, pode-se observar a partir das lâminas 9, 10, 11 e 12 moderada esteatose microvesicular nos animais tratados com o CCl_4 mais os EHEs de *S. paniculatum* L. respectivamente nas doses $0,5$ e $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal. Esta manifestação foi em menor intensidade quando comparada aos animais tratados somente com o CCl_4 , visualizado nas lâminas 7 e 8, e que apresentaram intensa esteatose microvesicular.

O acúmulo de lipídeos observados nas lâminas 9, 10, 11 e 12 seriam decorrentes da incapacidade da célula hepática em sintetizar lipoproteínas a partir de triglicerídios e "proteínas aceptoras de lipídios" a nível de retículos, tendo como consequência o acúmulo de gorduras no

interior do hepatócito (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996), e os resultados levam a crer ocorrência de menor esteatose nos animais tratados (lâminas 9, 10, 11 e 12) com os EHEs associados ao CCl₄.

Visualizando-se as lâminas 20 e 21 relativas ao fenômeno de necrose hepática, chega-se à conclusão que em ambas as doses dos EHEs associados ao CCl₄, induziram a moderada necrose do hepatócito, quando comparada ao grupo controle tratado somente com o CCl₄ que evidenciou forma semelhante do fenômeno (lâmina 19).

A necrose como evento patológico é decorrente do acúmulo intracelular de cálcio induzido pela peroxidação lipídica sendo capaz de ativar várias enzimas de membranas tais como fosfolipases, protetases, ATPases, endonucleases, associadas a liberação de enzimas catalíticas lisossomais da própria célula que podem conduzir a autólise e a heterólise (liberação de enzimas lisossomais de polimorfonucleares) (STEVENS & LOWE, 1996). Portanto a morte celular adviria em decorrência da peroxidação lipídica que desintegraria o citoesqueleto; alteraria a morfuncionalidade mitocondrial, membranas e ativaria várias enzimas catabólicas (DeLEVE & KAPLOWITZ, 1975; RECKNAGEL *et al.*, 1989; STEVENS & LOWE, 1996).

As lâminas 26 e 27 exibem o fenômeno tumefação turva dos hepatócitos, que na sua intensidade foi moderado para a dose de 0,5 g.kg⁻¹ e intensa para a dose de 1,0 g.kg⁻¹ de extrato associado ao CCl₄. O grupo

controle tratado somente com o CCl₄ exibiu intensa tumefação dos hepatócitos (lâmina 25).

Sabe-se que este fenômeno surge toda vez que ocorre: (1) modificações de membrana citoplasmática, tais como bolhas, projeções e distorção de microvilosidades, criação de figuras mielínicas e afrouxamento das ligações intercelulares; (2) alterações mitocondriais, incluindo tumefação, rarefação e surgimento de pequenas densidades amorfas ricas em fosfolipídeos; (3) dilatação do retículo endoplasmático com descolamento e desagregação de polissomos e (4) alterações nucleolares, com desagregação de elementos granulares e fibrilares (KAPLAN, 1993; ZIMMERMAN & LEWIS, 1995; COTRAN *et al.*, 1996; STEVENS & LOWE, 1996), podendo o CCl₄ reproduzi-las com fidelidade. Nossos resultados não evidenciaram diferenças significativas que pudessem justificar efeitos benéficos com o uso dos extratos de *Solanum paniculatum* L. a partir deste parâmetro (lâminas 26 e 27).

Como última colocação, existem algumas interações medicamentosas que podem exacerbar o dano hepático induzido pelo CCl₄. A colchicina é uma droga utilizada no tratamento de distúrbios do ácido úrico, que por bloquear a regeneração hepática em ratos, aumenta a progressão da lesão induzida pelo CCl₄, a exemplo da fenilpropanolamina em camundongos que induz a exacerbação da lesão pela estimulação dos receptores α_2 -adrenérgicos. A vitamina A é outra substância que por induzir a formação de uma quantidade maior de radicais livres em ratos potencializa

a lesão pelo CCl_4 (SPEEG & BAY, 1995), assim como administração crônica de etanol (ZIMMERMAN & LEWIS, 1995).

8.7. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HISTOPATOLÓGICAS NOS ANIMAIS TRATADOS COM *Solanum variable* M.

A literatura abordada sobre a espécie *Solanum variable* L, também revelou a presença de um alcalóide, a solasodina (WEILER *et al.*, 1980), que, como citado anteriormente exibiu atividade hepatoprotetora em modelo *in vivo* utilizando o CCl_4 (LIN *et al.*, 1988). Na análise química qualitativa identificamos alcalóides, flavonóides, saponinas e taninos nesta espécie (tabela 17), entidades químicas de reconhecida atividade hepatoprotetora como descritas também anteriormente.

Realizando-se a análise da figura 5, onde aparecem os valores de atividade enzimática das ALT (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *Solanum variable* M. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, valor na ordem de $462,14 \pm 31,3^{9*}$ foi obtido, evidenciando diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($367 \pm 12,01$). Outrossim, a tabela 5 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora em porcentagem, a partir de valores de atividade enzimática da ALT entre os diferentes grupos tratados,

indicou valor de hepatoproteção negativo para a dose utilizada de extrato (-27,35%).

Sabendo-se que a ALT é uma enzima citosólica sendo encontrada primariamente a nível hepático e secundariamente com baixa atividade no coração, músculo esquelético, rins, pâncreas e baço (ZIMMERMAN, 1974; KAPLAN, 1993; HENRY, 1995; ANDERSON & COCKAYNE, 1995) pode-se sugerir a partir de achados da figura 5, um efeito aditivo da associação EHE e CCl₄ induzindo lesão hepática nos animais tratados.

Analisando-se agora a figura 6, onde aparecem os valores de atividade enzimática das AST (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais o EHE de *S. variable* M. na dose de 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valor na ordem de 749,43±25,01 foi encontrado, não evidenciando diferença estatisticamente significativa (p>0,05), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (704,5±35,36). Outrossim, a tabela 6 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, a partir de valores de atividade enzimática da AST, também indicou valor de hepatoproteção negativo para a dose utilizada (-6,83%).

Em outra análise bioquímica, visualizada na figura 7, os valores de concentração sérica de bilirrubina total (μmol.L⁻¹) são indicadas, relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais o EHE de *S. variable* M. na dose de 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valor na ordem de 12,98±1,61 foi obtido, não sendo estatisticamente significativa (p>0,05), quando comparado

ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($10,24 \pm 0,81$). Outrossim, a tabela 3 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exhibe a partir de valores de concentração sérica de bilirrubina total, valores de hepatoproteção negativos para a dose utilizada (-54,2%).

Na figura 8 dos resultados bioquímicos, observa-se os valores de concentração sérica de bilirrubina direta ($\mu\text{mol.L}^{-1}$), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *S. variabile* M. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, na ordem de $3,51 \pm 0,78$, não sendo estatisticamente significativa ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($2,56 \pm 0,47$). A partir de achados da tabela 8 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exhibe-se a partir de dados numéricos de concentração sérica de bilirrubina direta, valores negativos para hepatoproteção na dose utilizada (-95,9).

Analisando-se os resultados histopatológicos, pode-se observar a partir das lâminas 13 e 14 intensa esteatose microvesicular nos animais tratados com o CCl_4 mais o EHE de *S. variabile* M. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal. Esta manifestação foi semelhante em intensidade quando comparada aos animais tratados somente com o CCl_4 , visualizado nas lâminas 7 e 8.

Observando-se a lâmina 22 relativa ao fenômeno de necrose hepática, associação entre o CCl_4 e o EHE, produziu moderada necrose do hepatócito, quando comparado ao grupo controle tratado somente com o CCl_4 que exibiu a manifestação semelhante (lâmina 19).

A lâmina 28 exibe o fenômeno de intensa tumefação turva dos hepatócitos induzida pela associação do EHE mais CCl₄, não diferindo do grupo controle tratado somente com o CCl₄ que também exibiu a mesma intensidade da manifestação histopatológica (lâmina 25).

8.8. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HISTOPATOLÓGICAS NOS ANIMAIS TRATADOS COM *Solanum nigrum* L.

A literatura abordada sobre a espécie *Solanum nigrum* L, revelou a presença de alcalóides (DOEPKE, 1987; RIDOUT *et al.*, 1989; VEIRA & FREIRE DE CARVALHO, 1993), sendo que dentre estes, os glicoalcalóides solasonina e solamargina (RIDOUT *et al.*, 1989), foram os que comprovadamente exibiram atividade hepatoprotetora em modelo *in vivo* utilizando o CCl₄ (LIN *et al.*, 1988).

Achados químicos qualitativos em nosso estudo também indentificaram a presença de flavonóides, saponinas e taninos (tabela 17), entidades químicas de reconhecida atividade hepatoprotetora como citado anteriormente. No presente trabalho demos uma atenção especial aos flavonóides quercetínicos 3-O-β-glicosil-β-galactosídeo e o 3-O-α-ramnosil-β-galactosídeo encontrados na espécie *Solanum nigrum* L. (NAWWAR *et al.*, 1989), visto pertencerem a um grupamento químico de reconhecida atividade

hepatoprotetora (ALCARAZ *et al.*, 1990; UBEDA *et al.*, 1995; SUNG *et al.*, 1997).

Outro constituinte químico descrito na espécie *Solanum nigrum* L., foi o glicosídeo β -sitosterol (HANNA *et al.*, 1996), que em experimentos de hepatotoxicidade exibiram efeitos benéficos (LIN & TOME, 1988; ANAND *et al.*, 1992; DE *et al.*, 1994). Associados a todas estas considerações químicas, levamos em consideração a presença de algumas vitaminas nas folhas da espécie *Solanum nigrum* L., tais como o β -caroteno e a vitamina C (NADEEM *et al.*, 1996), que poderiam de alguma forma contribuir com seu efeito antioxidante, prevenindo lesões celulares induzidas pela geração de radicais livres (YUYAMA & COZZOLINO, 1994; GILANI & JANBAZ, 1995b), em nosso protocolo experimental.

Realizando-se a análise da figura 9, onde aparecem os valores de atividade enzimática das ALT (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *Solanum nigrum* L. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, valor da ordem de $361 \pm 24,43$ foi obtido, não esboçando diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($367 \pm 12,01$). Outrossim, a tabela 9 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora em porcentagem, a partir de valores de atividade enzimática da ALT entre os diferentes grupos tratados, indicou valor de hepatoproteção positivo para a dose utilizada de extrato (1,72%).

Analisando-se agora a figura 10, onde aparecem os valores de atividade enzimática das AST (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais o EHE de *S. nigrum* L. na dose de 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valor na ordem de 634,38±17,91 foi encontrado, também não evidenciando diferença estatisticamente significativa (p>0,05), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (704,5±35,36). Outrossim, a tabela 10 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, a partir de valores de atividade enzimática da AST, indicou valor de hepatoproteção positivo para a dose utilizada (10,66%).

Em outra análise bioquímica, visualizada na figura 11, os valores de concentração sérica de bilirrubina total (μmol.L⁻¹) são indicadas, relativo aos animais tratados com a associação de CCl₄ mais o EHE de *S. nigrum* L. na dose de 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal, valor na ordem de 22,6±1,35^{9*} foi obtido, sendo este número estatisticamente significativo (p<0,05), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl₄ (10,24±0,81). Outrossim, a tabela 11 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exibe a partir de valores de concentração sérica de bilirrubina total, valores de hepatoproteção negativos para a dose utilizada (-293,34%), tal resultado poderia ser decorrente da influência da associação EHE+CCl₄ sobre os parâmetros causadores de elevação deste pigmento como discutido anteriormente (KISS, 1982; BERK, 1991; KAPLAN, 1995; HENRY, 1995).

Na figura 12 dos resultados bioquímicos, observa-se os valores de concentração sérica de bilirrubina direta ($\mu\text{mol.L}^{-1}$), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *Solanum nigrum* L. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, na ordem de $3,17 \pm 0,43$, não sendo estatisticamente significativa ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($2,56 \pm 0,47$). A partir de achados da tabela 12 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exibe-se a partir de dados numéricos de concentração sérica de bilirrubina direta, valores negativos para hepatoproteção na dose utilizada (-60%), sendo porém valor estatisticamente não significativo.

Observando-se os resultados histopatológicos, pode-se constatar a partir das lâminas 15 e 16 intensa esteatose microvesicular nos animais tratados com o CCl_4 mais o EHE de *S. nigrum* L. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal. Esta manifestação foi semelhante em intensidade quando comparada aos animais tratados somente com o CCl_4 , visualizado nas lâminas 7 e 8.

Analisando-se a lâmina 23 relativa ao fenômeno de necrose hepática, chega-se à conclusão na dose utilizada do EHE associado ao CCl_4 , produziu moderada necrose do hepatócito, e que, quando comparada ao grupo controle tratado somente com o CCl_4 não se mostrou diferente para este fenômeno histopatológico (lâmina 19).

A lâmina 29 que exibe o fenômeno tumefação turva dos hepatócitos induzida pela associação do EHE mais CCl_4 (intensa), não

diferiu do grupo controle tratado somente com o CCl₄ que também manifestou a mesma intensidade da manifestação histopatológica (lâmina 25).

MOUNDIPA & DOMNGANG, 1991, obtiveram resultados benéficos utilizando folhas de *Solanum nigrum* L. na dieta de ratas intoxicadas com AFB₁. A bateria de testes revelaram um aumento da atividade da atividade enzimática, além do incremento de duas enzimas extremamente importantes na detoxificação de compostos xenobióticos, a uridinidifosfato glicuroniltransferase e a glutatião-S-transferase. Os animais tratados com as folhas desta planta apresentaram níveis de asparato aminotransferase, fosfatase alcalina e γ -glutamil transferase compatíveis com índices de hepatoproteção.

SHARMA *et al.*, 1993, estudando uma preparação polih herbal, que entre seus constituintes figurava a presença de frutos de *S. nigrum* L., constataram o efeito hepatoprotetor em modelo utilizando o paracetamol, através de vários parâmetros bioquímicos e histopatológicos. Outro preparado polih herbal também foi estudado constituído entre por frutos da espécie *S. nigrum* L. Para tanto CHAUHAN *et al.*, 1994, avaliaram e comprovaram o efeito benéfico de tal preparado em protocolo de intoxicação crônica com álcool utilizando ratos, tendo como parâmetro os níveis do metabólito acetaldeído, que o componente polih herbal conseguiu regredir, diminuindo os danos lesivos deste agente químico a nível de parênquima hepático nos animais cronicamente tratados com etanol.

Sobre a ação antioxidante do *S. nigrum* L., SUFTANA *et al.*, 1995, conduziram um estudo, e constataram que o extrato bruto desta planta foi capaz de prevenir a oxidação do DNA de células de timo de bezerro, sugerindo que um dos efeitos hepatoprotetores desta espécie estaria ligado a sua ação estabilizante sobre a integridade do DNA de células hepáticas lesadas por processos patológicos.

NADEEM *et al.*, 1997, comprovaram o efeito hepatoprotetor dos frutos de *S. nigrum* e suas frações (etanólica e éter de petróleo) sobre lesões hepáticas induzidas pelo CCl₄ e paracetamol. Administrados em vários níveis de dose estes extratos foram capazes de reduzir a extensão do dano hepático a partir de índices enzimáticos (aminotransferases, fosfatase alcalina, etc...) assim como das concentrações de glutatião e nos achados histopatológicos. Estes autores sugeriram que o efeito protetor de tais extratos poderiam residir na capacidade destes inibirem a peroxidação lipídica pela varredura dos radicais livres do oxigênio, gerados por esta hepatotoxinas.

O preparado polihierbal contendo frutos de *Solanum nigrum* L., também foi testado em modelo utilizando estolato de eritromicina, se constatando através de análises bioquímicas e histopatológicas uma diminuição da peroxidação lipídica induzida pelos intermediários reativos oriundos do metabolismo do estolato de eritromicina, além do incremento dos mecanismos de detoxificação pelo restabelecimento dos níveis de glutatião e

glutatião-S-transferase hepático, fenômenos estes que traduziram em hepatoproteção (VENKATESWARAN *et al.*, 1997).

Em nossos resultados não vislumbramos quaisquer indicativos de diminuição da peroxidação lipídica em decorrência dos valores bioquímicos obtidos e das respectivas análises histopatológicas investigadas.

8.9. CONSIDERAÇÕES SOBRE AS ANÁLISES BIOQUÍMICAS E HISTOPATOLÓGICAS NOS ANIMAIS TRATADOS COM *Solanum cernuum* V.

A literatura abordada sobre a espécie *Solanum cernuum* V, também revelou a presença de alcalóides (PECKOLT , 1908; BRIGGS & CAMBIE, 1958; SIQUEIRA-JACCOUD, 1963; VILEGAS *et al.*, 1990), sendo que dentre estes, o glicoalcalóides solamargina (BRIGGS & CAMBIE, 1958; VILEGAS *et al.*, 1990), que comprovadamente exibiu atividade hepatoprotetora em modelo *in vivo* utilizando o CCl₄ (LIN *et al.*, 1988), nos chamou a atenção.

Achados químicos qualitativos em nosso estudo além de identificar alcalóides indicaram a presença de flavonóides, saponinas e taninos (tabela 17), entidades químicas de reconhecida atividade hepatoprotetora como citado anteriormente. Quando da análise da revisão

bibliográfica sobre os compostos químicos da espécie *Solanum cernuum* V., o ácido clorogênico recebeu destaque em função de sua reconhecida atividade hepatoprotetora em ensaios utilizando CCl_4 (LEXA *et al.*, 1989; RUSU *et al.*, 1994; KAPIL *et al.*, 1995).

Realizando-se a análise da figura 13, onde aparecem os valores de atividade enzimática das ALT (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *S. cernuum* V. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, valor na ordem de $354,5 \pm 15,4$ foi obtido, não havendo diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($367 \pm 12,01$). Outrossim, a tabela 13 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora em porcentagem, a partir de valores de atividade enzimática da ALT entre os diferentes grupos tratados, indicou valor de hepatoproteção positivo para a dose utilizada de extrato (3,59%).

Analisando-se a figura 14, onde aparecem os valores de atividade enzimática das AST (UI), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *S. cernuum* V. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, valor na ordem de $680,67 \pm 37,87$ foi encontrado, também não evidenciando diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($704,5 \pm 35,36$). Outrossim, a tabela 14 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, a partir de valores de atividade enzimática da AST, indicou valor de hepatoproteção positivo para a dose utilizada (3,62%).

Em outra análise bioquímica, visualizada na figura 15, os valores de concentração sérica de bilirrubina total ($\mu\text{mol.L}^{-1}$) são mostradas, relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *S. cernuum* V. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, valor na ordem de $11,84 \pm 0,92$ foi obtido, não sendo estatisticamente significante ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($10,24 \pm 0,81$). Outrossim, a tabela 15 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exhibe a partir de valores de concentração sérica de bilirrubina total, valores de hepatoproteção negativos para a dose utilizada (-31%).

Na figura 16 dos resultados bioquímicos, observa-se os valores de concentração sérica de bilirrubina direta ($\mu\text{mol.L}^{-1}$), relativo aos animais tratados com a associação de CCl_4 mais o EHE de *S. cernuum* V. na dose de $1,0 \text{ g.kg}^{-1}$ de peso corporal, na ordem de $2,41 \pm 0,33$ não sendo estatisticamente significante ($p > 0,05$), quando comparado ao grupo controle, tratado somente com o CCl_4 ($2,56 \pm 0,47$). A partir de achados da tabela 16 que expressa o cálculo da atividade hepatoprotetora, exhibe-se a partir de dados numéricos de concentração sérica de bilirrubina direta, valores positivos para hepatoproteção na dose utilizada (15,15%). O grupo de animais controle somente o EHE de *Solanum cernuum* V. exibiu valor estatisticamente significativo ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle

somente CCl₄, sugerindo uma ação auxiliar sobre as atividades funcionais envolvendo o fígado e o pigmento bilirrubina IX α .

Observando-se os resultados histopatológicos, pode-se constatar a partir das lâminas 17 e 18 intensa esteatose microvesicular nos animais tratados com o CCl₄ mais o EHE de *S. cernuum* V. na dose de 1,0 g.kg⁻¹ de peso corporal. Esta manifestação foi semelhante em intensidade quando comparada aos animais tratados somente com o CCl₄, visualizado nas lâminas 7 e 8.

Analisando-se a lâmina 24 relativa ao fenômeno de necrose hepática, chega-se à conclusão na dose utilizada do EHE associado ao CCl₄, produziu moderada necrose do hepatócito, que quando comparada ao grupo controle tratado somente com o CCl₄ não diferiram na sua intensidade (lâmina 19).

Finalmente a lâmina 30 exhibe o fenômeno de tumefação turva dos hepatócitos induzida pela associação do EHE mais CCl₄, tendo em sua análise, manifestação moderada, diferindo do grupo controle tratado somente com o CCl₄ no que diz respeito a intensidade da manifestação (lâmina 25).

9. CONCLUSÕES

9. CONCLUSÕES

1º) Os EHEs de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V., nas doses utilizadas, não foram capazes de alterar a rota de lesão hepatocitotóxica induzida pela administração prévia de CCl₄, tendo em vista os valores de atividade enzimática da ALT e AST, não evidenciando ação curativa.

2º) O EHE de *Solanum variabile* M. na dose utilizada exacerbou o efeito hepatotóxico do CCl₄, decorrente à elevação dos níveis séricos de ALT.

3º) Os EHEs de *Solanum paniculatum* L., *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* V., nas doses utilizadas, não foram capazes de alterar a rota de lesão hepatocitotóxica induzida pela administração prévia de CCl₄, tendo em vista os valores de concentração de bilirrubina IX_α total e direta, não evidenciando ação curativa.

4º) Os EHEs de *Solanum paniculatum* L. (0,5 e 1,0 g.kg⁻¹) e *Solanum nigrum* L. (1,0 g.kg⁻¹) potencializaram a lesão peroxidativa induzida pelo CCl₄, de acordo com as concentrações sanguíneas de bilirrubina IX_α total e direta obtidas.

5º) Não houve correlação entre as concentrações de bilirrubina IX_α com os achados semi-quantitativos histopatológicos.

6º) As espécies, a partir dos achados preliminares bioquímicos e histopatológicos não evidenciaram atividade hepatoprotetora no presente protocolo utilizando o CCl₄.

10. SUMMARY

10. SUMMARY

The post-treatments with the evaporated hidroalcholics extracts (EHEs) of the species *Solanum paniculatum* L. (jurubeba), *Solanum variabile* M. (jurubeba-falsa), *Solanum nigrum* L. (maria-pretinha) and *Solanum cernuum* Vell. (panacéia) ethnopharmacologically selected, were investigated in hepatic lesions previously induced by the carbon tetrachloride (CCl₄). EHEs were obtained by percolation the process A Pharmacophea Brazilian 2nd edition, being used, starting from the aerial parts of these species (stems, leaves, flowers), collected in Bragança from São Paulo area (SP). Previously the qualitative chemical analysis was proceeded for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. Albino rats, *Wistar*, males, were divided in 6 groups for *Solanum paniculatum* L. and 4 groups for *Solanum variabile* M., *Solanum nigrum* L. and *Solanum cernuum* V. , receiving in the time 0, respectively, **G1**, **G2** and **G3** (olive oil 3,75 mL.kg⁻¹, intragastrically - i.g.), **G4**, **G5** and **G6** (CCl₄ - 1.5 mL.kg⁻¹ in olive oil to 40% v/v; i.g.), for *S. paniculatum* L., and in the time 0, **G1** and **G2** (olive oil 3,75 mL.kg⁻¹, i.g.), **G3** and **G4** (CCl₄ - 1.5 mL.kg⁻¹ in olive oil to 40% v/v; i.g.) for the other species. In the times 6, 12 and 18h after CCl₄ treatment, the groups of *Solanum paniculatum* L. received, i.g., **G1** (vehicle of EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G2** and **G3** (EHE - 0,5 and 1,0g.kg⁻¹ respectively), **G4** (vehicle of EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G5** and **G6** (EHE - 0,5 and 1,0 g.kg⁻¹ respectively), being for the other species, **G1** (vehicle of EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G2** (EHE - 1,0g.kg⁻¹), **G3** (vehicle of EHE, 3,0 mL.kg⁻¹), **G4** (EHE - 1,0 g.kg⁻¹). Elapsed 24h00 from the lesion for the CCl₄, sanguine and hepatic specimens were collected, and as markers of the hepatotoxicity lesions, biochemical analyses of the activity of the aminotransferases (ALT and AST) and of the serics concentrations of total and direct bilirrubin were accomplished. For the histopatolgc study it was taken in to consideration the intensity of the stetatosis, necrosis and hydropic changes phenomenons of the hepatocytes. The biochemical values were submitted to variance analysis, Dunnett's test being

applied to the significant data ($p < 0,05$). The treated groups with EHEs associated to the CCl_4 didn't show to be effective in the reversion route of citotoxic hepatic lesion induced by this agent, in none of the administered doses, by means of the biochemical results. EHEs of *Solanum paniculatum* L. and *Solanum nigrum* L., have exacerbated the hepatic lesion for the CCl_4 according to the obtained values of total and direct bilirubin, as well as EHE of *Solanum variable* M., starting from the results of enzymatic activity of ALT. The results of the histopathological didn't differ significantly among the treated groups with CCl_4 and EHEs in relation to the treated group only with the CCl_4 , in the parameters steatosis, necrosis and hydropic changes of the hepatocytes. EHEs of *Solanum paniculatum* L., *Solanum variable* M., *Solanum nigrum* L. and *Solanum cernuum* V. were ineffective in the reversion of the progression of the hepatic damage caused by CCl_4 , being for this reason, deprived from hepatoprotective activity in the present experimental protocol, not justifying its ethnopharmacologic employment for the liver diseases treatment.

Key-words: Medicinal plants, useful plants, liver - diseases, toxicity - tests, hepatic functional tests.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, H.; SAKAGUCHI, M.; YAMADA, M.; et al. Pharmacological Actions of Saikosaponins Isolated from *Bupleurum falcatum*. Planta Med., New York, v. 40, p. 366-372, 1980.

ACHARYA, S.K.; DASARATHY, S.; TANDON, A.; et al. A preliminary open trial on interferon stimulator (SNMC) derived from *Glycyrrhiza glabra* in the treatment of sub-acute hepatic failure. Ind. J. Med. Res. (Section 8 - Biomedical Research other than Infectious Diseases) v. 98, p. 69-74, 1993.

AGRA, M.F. & BARBOSA FILHO, J.M. Levantamento da flora medicinal da Paraíba e triagem fitoquímica. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. 71, n. 3, p. 72-76, 1990.

AGUILAR, R.J.; ANDREUS, K.F.; DE LA SANTA, L.; et al. Zur behandlung der chronischen hepatitis. Eine vergleichende Studie zur wirksamkeit von Azothioprin und (+)-cyanidanol-3. Fortschr. Med., v. 96, p. 75-79, 1978.

ALCARAZ, M.J.; AÑON, M.T.; UBEDA, A. Flavonoids as Inhibitors of CCl₄-Induced Cytotoxicity in Isolated Hepatocytes. Planta Med., New York, v.56, p. 679, 1990.

ALPERT, M.E.; HUTT, M.S.R.; LOGAN, G.N.; et al. Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda. Cancer, Philadelphia, v.28, p. 253-260, 1971.

ANAND, K.K.; SINGH, B.; CHAND, D.; et al. An Evaluation of *Lawsonia alba* Extract as Hepatoprotective Agent. Planta Med., New York, v. 58, p. 22-25, 1992.

ANAND, K.K.; GUPTA, V.N.; BHUPINDER, S.; et al. Structure and Hepatoprotective Activity of a Biflavonoid from *Canarium manii*. Planta Med., New York, v.58, p. 493-495, 1992.

ANDERSON, S.C. & COCKAYNE, S. Química Clínica. 1. ed. Cidade do México: Interamericana McGraw-Hill, 1995. pp. 251-321.

AKISUE, G.; AKISUE, M.K.; OLIVEIRA, F. Farmacognosia. São Paulo: Pharmakon, 1993.

-
- ARAUJO, C.E.P. Efeito de um antifúngico derivado imidazólico - Cetoconazol, sobre o perfil enzimático da aspartato-aminotransferase e alanina-aminotransferase no soro de ratos parcialmente hepatectomizados. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 1992. 104 p.
- BALBACH, A. A Flora Nacional na Medicina Doméstica. 13. ed. São Paulo: M.V.P., 1982.
- BARROS, G.S. Pharmacological screening of some brasilian north eastern plants. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. 48, p. 195-201, 1967.
- BASS, N.; OCKNER, R. Drug induced liver disease. In Zakim, D.; Boyer, T. (eds.): Hepatology: A Textbook of Liver Disease. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990. pp. 754.
- BERK, P.D. Metabolismo da Bilirrubina e Hiperbilirrubinemias Herediárias. In: BOKUS - Gastroenterologia - Fígado. 1. ed. São Paulo: Livraria Editora Santos Ltda, 1991.
- BERNAT, J. & TETENYL, P. Ecological factor-adaptability-relationship of steroid alkaloid production based on investigation or examen two species,
-

Solanum laciniatum Ait. and *S. dulcamara* L. Acta Bot. Acad. Sci. Hungaricae, v. 24, n.1-2, p. 41-55, 1978.

BERNSTEIN, J.; VIDELA, L.; ISRAEL, Y. Metabolic alterations produced in the liver by chronic ethanol administration. Changes related to energetic parameters of the cell. Biochem. J., v. 134, p. 515-521, 1973.

BISHAYEE, A.; CHATTERJEE, M. Carrot aqueous extract protection against hepatic oxidative stress and lipid peroxidation induced by acute carbon tetrachloride intoxication in mice. Fitoterapia, Milano, v. LXIV, n.3, p. 261-265, 1993.

BLANCO, H.G. & FRATTINI, M.P. Catálogo das espécies de mato infestantes de áreas cultivadas no Brasil; família da maria-preta (*Solanaceae*). Q Biológico, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 71-90, 1978.

BLUM, A.; BERLLIET, P.; DOELLE, W.; et al. Treatment of acute viral hepatitis with (+)-cyanidanol-3. Lancet, Londres, v.2, p. 1153-1155, 1977.

BOREL, G.A.; SCHELLING, J.L.; MAGNENAT, P. Wirksamkeit der Flavanoidverbindung (+)-cyanidanol-3 bei der akuten virushepatitis. Z. Gastroent., v. 16, p. 24-29, 1976.

BOYD, E.M.; BEREZKY, G.M. Liver necrosis from paracetamol. Br. J. Pharmacol., Londres, v. 26, p. 606-609, 1966.

BRADFORD, B.U.; MISRA, U.K.; THURMAN, R.G. Kupffer cells required for the swift increase in alcohol metabolism. Res. Commun. Subst. Abuse, v. 14, p. 1-6, 1993.

BRADLEY, V. A survey of Australian *Solanum* species for potentially useful sources of solasodine. Aust. J. Bot., v. 26, p. 723-54, 1978.

BRIGGS, L.H. & CAMBIE, R.C. *Solanum* alkaloids. Part XIII. The examination of the Alkaloids from seven *Solanum* species. Journal of the Chemical Society, v. 4, p. 1422-1425, 1958.

BRUNETON, J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. 1. ed. Zaragoza: Editorial ACRIBIA S.A., 1991. pp. 355-366.

CAMARGO, M.T.L.A. Medicina Popular. São Paulo: ALMED Editora e Livraria Ltda., 1985. pp. 69-71.

CAMILO, A.M.; MARQUES, R.M.; GODOY, C.A.; et al. Efeito do extrato aquoso bruto da *Solanum paniculatum* L. na Úlcera Crônica induzida em

-
- ratos. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIVº, Florianópolis, 1996. Trabalhos apresentados. pp. 103.
- CAMPOS, R.; GARRIDO, A.; GUERRA, R.; et al. Silybin Dihemisuccinate Protects Against Glutathione Depletion and Lipid Peroxidation Induced by Acetaminophen on Rat Liver. Planta Med., New York, v. 55, p. 417-419, 1989.
- CARVALHO, A.R. A cura pelas plantas. 2. ed. São Paulo: Folco Masucci, 1970.
- CARVALHO, L.F. Plantas invasoras de culturas no Estado do Rio de Janeiro. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 2º, Belo Horizonte, 1958. Trabalhos apresentados. pp. 115-23.
- CASARETT, L.J. & DOULL, J. Casarett and Doull's TOXICOLOGY. The Basic Science of Poisons. 3. ed. New York: Macmillan Publishing Company, 1986. pp. 286-309.
- CHATERJEE, S.K. et al. Effects of external and internal factors on increase of productivity of alkaloids and steroids in some commercially cultivated medicinal plants of Darjeeling Hills (West Bengal) India. Planta Med., New York, v. 36, n. 3, p. 235-6, 1979.
-

-
- CHAUHAN, B.L.; MOHAN, A.R.; KUIKAMI, R.D.; et al. Bioassay for evaluation of the hepatoprotective effect of LIV.52, a polyherbal formulation, on ethanol metabolism in chronic alcohol-exposed rats. Indian Journal of Pharmacology, v. 26, n.2, p. 117-120, 1994.
- COELHO, M. & LIMA, D.A. Nota prévia sobre a melhoria de coberturas vegetais pelo emprego de herbicidas seletivos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 1º, Rio de Janeiro, 1956. Trabalhos apresentados. pp. 21-5.
- COIMBRA, R. Notas de fitoterapia. Rio de Janeiro: Laboratório Silva Araujo, 1942.
- CONTI, M.; PORZIO, R.; MALANDRINO, S. Activity of Silipide Against Ethanol-Induced Liver Damage in Rats. Planta Med., New York, v. 57, n. 2, p. A115-A116, 1991.
- CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 6v.
- COSTA, A.F. Farmacognosia. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1967. 1038p. 2 v.
-

-
- COSTA, F.A.P.L. & GOMES FILHO, A. Sobre a biometria de *Solanum cernuum* Vell (*Solanaceae*). In: Congresso Nacional de Botânica, XLVº, São Leopoldo, 1994. Trabalhos apresentados. pp. 562.
- COSTA, O.A. Jurubeba. Syniátrica, São Paulo, v. 3/4, p. 3-16, março/abril, 1940.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.; et. al. Patologia Estrutural e Funcional. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. pp.1-31.
- CRANCE, J. M.; LEVEQUE, F.; BIZIAGOS, E.; et al. Studies on mechanism of action of glycyrrhizin against hepatitis A, virus replication in vitro. Antiviral Res., v. 23, p. 63-76, 1994.
- CRUZ, G.L. Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ed. Civilizações Brasileiras S.A., 1979.
- DAFNI, A.; YANIV, Z. *Solanaceae* as medicinal plants in Israel. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 44, n.1, p. 11-18, 1994.
- DAVILA, J.C.; LENHERR, A.; ACOSTA, D. Protective Effect of Flavonoids on Drug-induced Hepatotoxicity *in vitro*. Toxicology, v. 57, p. 267-286, 1989.
-

DE, S.; RAVISHANKAR, B.; BHAVSAR, G.C. An Investigation on the Hepatoprotective Activity of *Gymnosporia montana*. Planta Med., New York, v. 60, p. 301-304, 1994.

DE, S.; SHUKLA, V.J.; RAVISHANKAR, B.; et al. A preliminary study on the hepatoprotective activity of methanol extract of *Paederia foetida* leaf. Fitoterpia, Milano, v. LXVII, n.2, p. 106-109, 1996.

ABREU MATOS, F.J. A validação de novas drogas e plantas medicinais. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. 76, n. 4, p. 90-92, 1995.

SIQUEIRA-JACCOUD, R.J. Contribuição ao Estudo Farmacognóstico do *Solanum cernuum* Velozzo. Tese (Livre-Docência) - Faculdade Nacional de Farmácia da Universidade do Brasil, 1963. 56 p.

SIQUEIRA-JACCOUD, R.J.; PEREIRA, N.A.; LAINETTI, R. Jurubeba. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. julho-dezembro, p. 121-31, 1982.

DeLEVE, L.D. & KAPLOWITZ, N. Mecanismos da hepatopatia medicamentosa. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 4, p. 795-818, 1975.

DIEHL, A.M. Doença Hepática Alcoólica. Clínicas Médicas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 73, n. 4, p. 899-917, 1989.

DIEHL, E.E.; RODRIGUES, P.A.; NICOLAU, M. Avaliação da atividade anti-secretora gástrica de produtos fitoterápicos comercializados como jurubeba. Comparação com as espécies *Solanum paniculatum* e *Solanum fastigiatum*. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, XI^o, Caxambu, 1996. Trabalhos apresentados. pp. 81.

DIXIT, S.P.; ACHAR, M.P. Bhumyamalaki (*Phyllanthus niruri* Linn) and jaundice in children. J. Nat. Integr. Med. Assoc., v. 25, p. 269-273, 1983.

DOEPKE, W.; DUDAY, S.; MATOS, N.; Alkaloids and sapogenins from *Solanum nigrum*. Z. Chem., v. 27, n. 2, p. 64, 1987.

DROY-LEFAIX, M.-T.; FERRADINI, C.; GARBES-ALBERT, M. Os Radicais Livres. São Paulo: BYK Química, 1995. pp. 1-52.

DWIVEDI, Y.; RASTOGI, R.; SHARMA, S.K.; et al. Picroliv Affords Protection Against Thioacetamid-Induced Hepatic Damage in Rats. Planta Med., New York, v. 57, p. 25-28, 1991.

EDWALL, G. Ensaio para uma sinonímia dos nomes. Boletim da Comissão Geográfica Geológica de São Paulo, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 1-70, 1906.

ELISABETSKY, E. & MORAES, J.A.R. Ethnopharmacology: a technological development strategy. First International Congress of Ethnobiology, v. 2, p. 111-118, 1988.

ELISABETSKY, E. & WANNMACHER, L. The status of ethnopharmacology in Brasil. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 38, p. 137-143, 1993.

FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2. ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira, 1959.

FERENCI, P.; DRAGOSICS, B.; DITTRICH, H.; et al. Randomized controlled trial of silymarin treatment in patients with cirrhosis of the liver. J. Hepatol., Shannon, v. 9, p. 105-113, 1989.

FERNÁNDEZ-CHECA, J.C. Mitochondrial glutathione depletion in alcoholic liver disease. Alcohol, v. 10, p. 469-75, 1993.

FERREIRA, A.B.H. Novo Dicionário da Língua Portuguesa. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1975. pp. 1032.

-
- FERREIRA, M.B. Plantas daninhas de pastagens no Estado de Minas Gerais e recomendações para seu controle. Belo Horizonte: EPAMIG, 1979. 43p.
- FERREIRA, M.B. & LACA-BUENDIA, J.P.C. Espécies consideradas plantas daninhas em áreas cultivadas no Estado de Minas Gerais. Planta Daninha, v. 1, n. 2, p. 19-26, 1978.
- FIGUEIREDO, E.G.; RAO, V.S.; CIPRIANO, T.C.; et al. Efeito de Fração Purificada de *Wilbrandia (cf) verticillata* sobre lesões hepáticas induzidas pelo Tetracloreto de Carbono. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. 73, n. 1, p. 13-4, 1992.
- FLOERSHEIM, G. L. Treatment of human amatoxin mushroom poisoning. Myths and advances in therapy. Med. Toxicol., v. 2, p. 1-9, 1987.
- FLOERSHEIM, G.L.; WEBER, O.; TSCHURNI, P.; et al. Die Klinische knollenblatterpilzvergiftung: Prognostische faktoren und therapeutische Massnahmen. Schweiz Med. Wochenschr., v. 112, p. 1164-1177, 1982.
- FRAENKEL, G.S. The raison d'Jtre of secondary plants substances. Science, New York, v. 129, p. 1466-70, 1959.
-

FRENCH, S.W. Nature, pathogenesis and significance of the Mallory body. Semin. Liver Dis., v. 1, p. 217-226, 1981.

FUJISAWA, K.; WATANABE, H.; KIMATA, K. Therapeutic approach to chronic active hepatitis with glycyrrhizin. Asian Med. J., v. 23, p. 745-756, 1973.

GADGOLI, C.; MISHRA, S.H. Preliminary screening of *Achillea millefolium*, *Cichorium intybus* and *Capparis spinosa* for antihepatotoxic activity. Fitoterapia, Milano, v. LXVI, p. 319-323, 1995.

GADGOLI, C.; MISHRA, S.H. Antihepatotoxic activity of *Cichorium intybus*. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 58, p. 131-134, 1997.

GEETHA, J.; MANJULA, R.; MALATHI, S.; et al. Efficacy of essential phospholipid substance of Soya bean oil and *Phyllanthus niruri* in acute viral hepatitis. J. Gen. Med. (Índia), v. 4, p. 53-58, 1992.

GILANI, A.-U. H.; JANBAZ, K.H. Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CCl₄-induced hepatotoxicity. Gen. Pharmacol., v. 26, n. 2, p. 309-315, 1995.

GILANI, A.-U. H.; JANBAZ, K.H. Preventive and Curative Effects of *Berberis aristata* Fruit Extract on Paracetamol- and CCl₄-induced Hepatotoxicity. Phytotherapy Research, Chichester, v. 9, p. 489-494, 1995.

HANNA, A.G.; YASSIN, F.Y.S.; ALLAN, R.I.; et al. A phytochemical screening of some solanaceous plants. Phytosterol and fatty acid constituents of *Solanum eiaeagnifolium* and *Solanum nigrum* in addition to preliminary pharmacological and antimicrobial investigation. Egypt. J. Pharm. Sci., v. 37, n. 1-6, p. 211-231, 1996.

HARRISON, D.C.; PAASO, B.T. *Amanita phalloides* poisoning. West J. Med., v. 138, p. 731-732, 1983.

HARRY, S.; BIELAVSKY, M.; SILVA, R.O.; et al. Efeitos do tratamento crônico com o extrato de *Solanum paniculatum* L. na fertilidade e na capacidade reprodutora de ratos. II. Efeitos na geração F₂. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIII^o, Fortaleza, 1994. Trabalhos apresentados, pp. 333.

HASE, K.; KADOTA, S; BASNET, P.; et al. Hepatoprotective Effects of Traditional Medicines. Isolation of the Active Constituent from Seeds of

-
- Celosia argentea*. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 387-392, 1996.
- HASEEB, A.; BUTOOL, F. Evaluation of nematicidal properties of some members of the family *Solanaceae*. Bioresource Technology, v. 57, n.1, p. 95-97, 1996.
- HAYASHI, J.; KAJIYAMA, W.; NOGUCHI, A.; et al. Glycyrrhizin withdrawal followed by human lymphoblastoid interferon in the treatment of chronic hepatitis. B. Gastroenterologia Japonica, v. 26, p. 742-746, 1991.
- HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 18. ed. São Paulo: Manole LTDA., São Paulo, 1995. pp. 261-324.
- HIKINO, H.; KISO, Y.; KINOUCHI, J.; et al. Antihepatotoxic Actions of Ginsenosides from *Panax ginseng* Roots. Planta Med., New York, v. 9, p. 62-64, 1985.
- HIKINO, H.; TOHKIN, M.; KISO, Y.; et al. Antihepatotoxic Actions of *Allium sativum* Bulbs. Planta Med., New York, v. 9, p. 163-168, 1986.
- HOEHNE, F.C. O que vendem os herbanários da cidade de São Paulo. São Paulo: Casa Duprat, São Paulo, 1920.
-

-
- HOENE, F.C. Plantas e Substâncias Vegetais Tóxicas e Medicinais. São Paulo: Departamento de Botânica do Estado, 1978. pp.252-257.
- HOFFMANN-BOHM, K.; LOTTER, H.; SELIGMANN, O.; et al. Antihepatotoxic C-Glycosylflavones from the Leaves of *Allophyllus edulis* var. *edulis* and *gracilis*. Planta Med., New York, v. 58, p. 544-548, 1992.
- HOLT, C.; CSETE, M.; MARTIN, P. Hepatotoxicidade dos Anestésicos e de Outras Drogas que Afetam o Sistema Nervoso Central. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 861-882, 1995.
- HOOSER, S.B. Microcystin-L-R-induced ultrastructural changes in rat. Vet. Pathol., v. 27, p. 9-15, 1990.
- HOUGHTON, P; HIKINO, H. Anti-Hepatotoxic Activity of Extracts and Constituents of *Buddleja* Species. Planta Med., New York, v. 55, p. 123-126, 1989.
- HRUBY, K.; CSOMOS, G.; FUHRMANN, M.; et al. Chemotherapy of *Amanita phalloides* Poisoning with Intravenous Silibinin. Human Toxicol., v. 2, p. 183-195, 1983.
-

-
- IIMURO, Y.; IKEJIMA, K.; ROSE, M.L.; et al. Nimodipina, a Dihydropyridine-Type Calcium Channel Blocker, Prevents Alcoholic Hepatitis Caused by Chronic Intra-gastric Ethanol Exposure in the Rat. Hepatology, Orlando, v. 24, n. 2, p. 391-397, 1996.
- IP, S.P.; POON, M.K.T.; WU, S.S.; et al. Effect of Schisandrin B on Hepatic Glutathione Antioxidant System in Mice: Protection against Carbon Tetrachloride Toxicity. Planta Med., New York, v. 61, p. 398-401, 1995.
- JAYANTHI, V.; MADANAGOPALAN, N.; THYAGARAJAN, S.P. Value of herbal medicines *Phyllanthus niruri*, *Eclipta alba*, *Piper longus*, Thippili (Tamil), and combination of *Phyllanthus niruri* and *Ricinus communis* (Ictrus-Pharm. Products) in acute viral hepatitis. J. Gastroenterol. Hepatol., v. 3, p. 533-534, 1988.
- JAYATHILAKA, K.A.P.W.; THABREW, M.I.; PATHIRANA, C.; et al. An Evaluation of the Potency of *Osbeckia octandra* and *Melothria maderaspatana* as Antihepatotoxic Agents. Planta Med., New York, v. 55, p. 137-139, 1989.
- JI, S.; LEMASTERS, J.J.; CHRISTENSON, V.R.; et al. Periportal and pericentral pyridine nucleotide fluorescence from the surface of the
-

perfused liver: evaluation of the hypothesis that chronic treatment with ethanol produces pericentral hypoxia. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, v. 79, p. 5415-5419, 1982.

JOYEUX, M.; ROLLAND, A.; FLEURENTIN, J.; et al. *Tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Injury in Isolated Rat Hepatocytes: A Model for Studying Anti-hepatotoxic Crude Drugs*. Planta Med., New York, v. 56, p. 171-174, 1990.

KAPIL, A.; KOUL, I.B.; SURI, O.P. *Antihepatotoxic Effects of Chlorogenic Acid from *Anthocephalus cadamba**. Phytotherapy Research, Chichester, v. 9, p. 189-193, 1995.

KAPLAN, M.M. Laboratory Tests. Diseases of the Liver. Ed. By Schiff, L. & Schiff, E.R. 7. ed. Philadelphia: Lippincott Company, 1993. pp. 108-783

KAUL, B.L. & ZATSHI, U. Cultivation of *Solanum khasianum* Clarke for steroids. In: Atal, C.K. & Kapur, B.M. *Cultivation and utilization of medicinal plants*. New Delhi: CSIR, 1982. p. 98-106.

KAWATA, N.P. *Aspectos anatômicos de *Solanum fastigiatum* Willdenow, var. *Fastigiatum* - Solanaceae*. Tese (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 1978. 57p.

-
- KHAN, F. & IRAN, M. *Solanum* species as a source of steroidal drugs. Pakistan Jour. Sci. Ind. Res., v. 26, n. 3, p. 126-7, 1983.
- KIESSEWETTER, E.; LEODOLTER, I.; THALER, H. Ergebnisse zweier doppelblindstudien zur wirksamkeit von silymarin bei chronischer hepatitis. Leber. Magen. Darm., v. 7, p. 318-323, 1977.
- KISO, Y.; KATO, O.; HIKINO, H. Assay Methods for Antihepatotoxic Activity Using Peroxid-Induced Cytotoxicity in Primary Cultured Hepatocytes. Planta Med., New York, v. 9, p. 50-52, 1987.
- KISO, Y.; TOHKIN, M.; HIKINO, H. Mechanism of Antihepatotoxic Activity of Atractylon, I: Effect on Free Radical Generation and Lipid Peroxidation. Planta Med., New York, v. 2, p. 97-100, 1985.
- KISS, M.H.B. Diagnóstico Diferencial das Hiperbilirrubinemias Diretas nos Primeiros Quatro Meses de Vida. Tese (Doutorado) - Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1982. 546p.
- KO, K.M.; IP, S.P.; POON, M.K.T.; et al. Effect of a Lignan-Enriched Fructus *Schisandrae* Extract on Hepatic Glutathione Status in Rats: Protection
-

- against Carbon Tetrachlorid Toxicity. Planta Med., New York, v. 61, p. 134-137, 1995.
- LAHOTI, S.; LEE, W.M. Hepatotoxicidade de agentes antiolesterol, cardiovasculares e endócrinos e hormonais. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 913-927, 1995.
- LARA, R.A. & SOTO, H.A. Estudio comparativo de los métodos cuantitativos de analisis de las alcalinas de *Solanum*. Rev. Cient. Farm., v. 1, p. 41-84, 1975a.
- LEE, M.-K.; CHOI, Y.-J.; SUNG, S.-H.; et al. Antihepatotoxic Activity of Icaritin, a Major Constituent of *Epimedium koreanum*. Planta Med., New York, v. 61, p. 523-526, 1995.
- LEITÃO FILHO, H.F. et al. Plantas invasoras de culturas. São Paulo: HUCITEC: Ministério da Agricultura, Agiplan Banco Interamericano de Desenvolvimento, 1972. 2v.
- LEPORATTI, M.L. & LATTANZI, E. Traditional phytotherapy on coastal areas Makran (Southern Pakistan). Fitoterapia, Milano, v. LXV, n. 2, p. 158-161, 1994.

-
- LEWIS, J.H.; ZIMMERMAN, H.J. Doença Hepática Farmacogênica. Clínicas Médicas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 73, p. 851-872, 1989.
- LEXA, A.; FLEURENTIN, J.; LEHR, P.R.; et al. Choloretic and Hepatoprotective Properties of *Eupatorium cannabinum* in the Rat. Planta Med., New York, v. 55, p. 127-132, 1989.
- LIEBER, C.S. Metabolismo do Álcool e Efeitos Hepáticos Associados. Em Haubrich, W.S.; Kalsner, M.H., Roth, J.L.A.; Schaffner, F. (coordenadores): Bokus. GASTROENTEROLOGIA. Fígado. 4. ed. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1995. pp. 357-384.
- LIMA, D.A. Plantas "invasoras" da Zona da Mata de Pernambuco. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 15º, Porto Alegre, 1964. Trabalhos apresentados. p.p. 299-367.
- LIMA, E.O.; CURY, A.E.; FISCHMAN, O.G.; et al. Atividade antifúngica de extratos de plantas medicinais sobre *Trichophyton*, *Microsporum* e *Epidermophyton* isolados de pacientes com dermatofitoses. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIIIº, Fortaleza, 1994. Trabalhos apresentados. pp. 036.
-

-
- LIN, C.-N & GAN, K.-H. Antihepatotoxic Principles of *Solanum capsicastrum*. Planta Med., New York, v. 55, p. 48-50 b.
- LIN, C.-N. & TOME, W.-P. Antihepatotoxic Principles of *Sambucus formosana*. Planta Med., New York, v. 54, p. 223-224, 1988.
- LIN, C.-C.; CHANG, C.-H.; YANG, J.-J.; et al. Hepatoprotective effects of emodin from *Ventilago leiocarpa*. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 52, p. 107-111, 1996.
- LIN, C.-C.; LEE, H.-Y.; CHANG, C.-H.; et al. Evaluation of the Liver Protective Principles from the Root of *Cudrania cochinchinensis* var. *gerontegea*. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 13-17, 1996.
- LIN, C.-C.; SHIEB, D.-E. In vivo Hepatoprotective Effect of Baicalein, Baicalin and Wagonin from *Scutellaria rivularis*. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 651-654, 1996.
- LIN, C.-C.; TSAI, C.-C.; YEN, M.-H. The evaluation of hepatoprotective effects of Taiwan folk medicine "Teng-Khia-U". Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 45, p. 113-123, 1995.
-

-
- LIN, S.-C.; TENG, C.-W.; LIN, C.-C.; et al. Protective and Therapeutic Effect of the Indonesian Medicinal Herb *Curcuma xanthorrhiza* on β -D-Galactosamine-induced Liver Damage. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 131-135, 1996.
- LIN, S.-C.; YAO, C.-J.; LIN, C.-C.; et al. Hepatoprotective Activity of Taiwan Folk Medicine: *Eclipta prostrata* Linn. Against Various Hepatotoxins Induced Acute Hepatotoxicity. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 483-490, 1996.
- LINS, R.G. Controle de *Solanum paniculatum* L. - Jurubeba em pastagens pelo emprego de herbicida seletivo. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 1º, Rio de Janeiro, 1956. Trabalhos apresentados. pp. 16-26.
- LORENZI, H.J. Principais ervas daninhas do Estado do Paraná - IAPAR. Boletim Técnico 2. ed. Londrina: IAPAR, 1976.
- LUDWIG, J. Drug effects on the liver: A tabular compilation of drugs and drug-related hepatic disease. Dig. Dis. Sci., Pittsburg, v. 24, p. 785-791, 1980.
-

MAGALHÃES, R.B.; MARRONI, N.P.; MATTOS, A.A.; et al. Lesão Hepática Induzida por Inalação de Tetracloreto de Carbono (CCl₄) em Ratos: Achados Histológicos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, X^o, Caxambu. Trabalhos apresentados. pp. 227.

MAGLIULO, E.; GAGLIARDI, B.; FIORI, G.P. Results of a double-blind study on the effect of silymarin in the treatment of acute viral hepatitis. Med. Klin., v. 73, p. 1060-1065, 1978.

MAK, D.H.; IP, S.P.; LI, P.C.; et al. Effects of Schisandrin B and alpha-tocoferol on lipid peroxidation, *in vitro* and *in vivo*. Mol. Cell. Biochem., v. 165, n. 2, p. 161-165, 1996.

MAK, K.M.; LEO, M.A.; LIEBER, C.S. Alcoholic liver injury in baboons: Transformation of lipocytes to transitional cells. Gastroenterology, Baltimore, v. 87, p. 188-193, 1984.

MANANDHAR, N. An ethnobotanical survey of herbal drugs of Kaski district, Nepal. Fitoterapia, Milano, v. LXV, n. 1, p. 7-13, 1994.

- MANDAL, P.K.; BISHAYEE, A.; MUKHERJEE, J.R.; et al. Effect of *Mikania cordata* root extract on lipid metabolism in carbon tetrachloride induced fatty liver in mice. Fitoterapia, Milano, v. LXIII, n. 2, p. 160-162, 1992.
- MATSUDA, H.; SAMUKAWA, K.-I.; KUBO, M. Anti-Hepatic Activity of Ginsenoside Ro. Planta Med., New York, v. 57, p. 523-526, 1991.
- MATTOS FILHO, T.R. Influência da hepatectomia parcial no tempo de sono pelo metohexital em ratos. Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, 1976. 56 p.
- MELO, C.L.; RAO, V.S.; SILVA, J.C.R.; et al. Efeitos da Ternatina sobre Lesões Hepáticas. In: Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, XIº, João Pessoa, 1990. Trabalhos apresentados. pp. 3.03
- MESIA, V.S.; SANTOS, M.T.; LAPA, A.J. Atividade da *Solanum paniculatum* L. na secreção ácida gástrica de camundongos. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIIIº, Fortaleza, 1994. Trabalhos apresentados. pp. 096.
- MINATO, Y.; HASUMURA, Y.; TAKEUCHI, J. The role of fat-storing cells in Disease space fibrogenesis in alcoholic liver disease. Hepatology, Orlando, v. 3, p. 559-564, 1983.

-
- MITCHELL, D.B.; ACOSTA, D. Evaluation of the cytotoxicity of tricyclic antidepressants in primary cultures of rat hepatocytes. Toxicol. Environ. Health, v. 7, p. 83-88, 1981.
- MITCHELL, J.R.; LAUTERBURG, B.H. Drug-induced liver injury. Hosp. Pract., v. 13, p. 95-98, 1978.
- MIZOGUCHI, Y.; SAKAGAMI, C.; ICHIKAWA, Y.; et al. Choloretic Effects of α -Iridodiol on Experimentally Induced Intrahepatic Cholestasis. Planta Med., New York, v. 58, p. 394-397, 1992.
- MIZOGUCHI, Y.; SHIN, T.; KOBAYASHI, K.; et al. Effect of Gomisins A in an Immunologically-Induced Acute Hepatic Failure Model. Planta Med., New York, v. 57, p. 11-14, 1991.
- MONTEIRO FILHO, H.; PAIXÃO, J.C.; MONTEIRO, J.M. Plantas herbáceas invasoras de cultivo. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE HERBICIDAS E ERVAS DANINHAS, 1º, Rio de Janeiro, 1956. Trabalhos apresentados. pp. 157-69.
- MORAZZONI, P. & BOMBARDELLI, E. *Sylibum marianum* (*Carduus marianus*). Fitoterapia, Milano, v. LXVI, n. 1, p. 3-42, 1995.
-

-
- MOSELEY, R.H. Avaliação das Provas de Função Hepática Anormais. Clinicas Médicas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 80, n. 5, p. 893-911, 1996.
- MOUNDIPA, P.F. & DOMNGANG, F.M. Effect of the leafy vegetable *Solanum nigrum* on the activities of some liver drug-metabolizing enzymes after aflatoxin B₁ treatment in female rats. British Journal of Nutrition, v. 65, p. 81-91, 1991.
- NADEEM, M.; DANDIYA, P.C.; PASHA, K.V.; et al. Hepatoprotective activity of *Solanum nigrum* fruits. Fitoterapia, Milano, v. LXVIII, n. 3, p. 245-251, 1997.
- NAVARRO, M.C.; MONTILLA, M.P.; MARTÍN, A.; et al. Free Radical Scavenger and Antihepatotoxic Activity of *Rosmarinus tomentosus*. Planta Med., New York, v. 59, p. 312-314, 1993.
- NAWWAR, M.; EL-MOUSALLAMY, A.M.D.; BARAKAT, H.H. Quercetin 3-glycosides from the leaves of *Solanum nigrum*. Phytochemistry, v. 28, n. 6, p. 1755-7, 1989.
-

-
- NIEBES, P. & PONARD, G. Stabilization of Rat Liver Lysosomes by (+)-Cyanidanol-3 *in vivo*. Biochemical Pharmacology, v. 24, p. 905-909, 1975.
- NOMURA, M.; HIDA, T.; MIYAMOTO, K.-I.; et al. Synergistic Effects of Inchin-ko-to (Yin-Chen-Hao-Tang) and Ursodeoxycholic Acid on Cholestasis caused by α -Naphthyl Isothiocyanate. Phytotherapy Research, Chichester, v. 9, p. 563-566, 1995.
- NOSE, M.; ITO, M.; KAMINURA, K.; et al. A comparison of the Antihepatotoxic Activity between Glycyrrhizin and Glycyrrhetic Acid. Planta Med., New York, v. 60, p. 136-139, 1994.
- OKONKWO, J.O.; MSONTHI, J.D. Preliminary study on the effect of Nigerian "blood wort" on experimentally induced liver damage. Fitoterapia, Milano, v. LXVI, n. 5, p. 387-389, 1995.
- OLIVEIRA, F. & AKISSUE, G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 178p.
- OSAWA, T. Antioxidantes Vegetais: Papel Protetor Contra as Espécies Reativas do Oxigênio. Cosmetics & Toiletries, São Paulo, v. 7, n. 3/4, p. 38-43, 1995.
-

-
- PAQUIN, R. Study of the role the glycolakaloids in the resistance of potato bacterial ring root. American Potato Journal, v. 43, p. 349-54, 1966.
- PECKOLT, T. Heil-und Nutzpflanzen Brasiliens. Sonder-Abdruck aus den Berichten der Deutschen. Pharmazentischen Gesellschaft, v. 643, p. 180-206, 1908.
- PENNA, M. Notas sobre Plantas Brasileiras. Rio de Janeiro: Araujo Penna e Cia., 1930. pp. 419-20.
- PERCÁRIO, S.; Fellipe Junior, J.; Martinez, T.L.R. Radicais Livres. O papel do Laboratório Clínico na Avaliação. ARS CVRANDI, São Paulo, v. 8, p. 58-64, 1992.
- PIFFERI, G. Silipide: A New Bioavailable Complex of Silybin. Planta Med., New York, v. 57 (Supplement Issue 2), p. A12, 1991.
- PINTO, A. Dicionário de botânica brasileira. Rio de Janeiro: Perseverança, 1873. pp. 260-61.
-

-
- QU, W.; ZHONG, Z.; GOTO, M.; et al. Kupffer cell prostaglandin E₂ stimulates parenchymal cell O₂ consumption: effect of alcohol treatment on cell-cell communication. Am. J. Physiol., v. 270, p. G574-G580, 1996.
- QUER, P.F. Plantas Medicinales. Barcelona: Editorial Labor, 1961. pp. 562-605.
- RAO, P.G.M.; RAO, S.G.; KUMAR, V.; et al. Effects of Hepatogard against carbon tetrachloride induced liver damage in rats. Fitoterapia, Milano, v. LXIV, p. 2, p. 108-113, 1993.
- RAO, K.S.; MISHRA, S.H. Hepatoprotective activity of *Inula racemosa* root. Fitoterapia, Milano, v. LXVIII, n. 6, p. 510-514, 1997.
- RASTOGI, R.; SAKSENA, S.; GARG, N.K.; et al. Picroliv Protects Against Alcohol-Induced Chronic Hepatotoxicity in Rats. Planta Med., New York, v. 62, p. 283-285, 1996.
- RECKNAGEL, R.O. & GLENDE Jr, E.A. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. An example of lethal cleavage. CRC Crit. Rev. Toxicol., v. 2, p. 263-67, 1973.

-
- RECKNAGEL, R.O.; GLENDE, E.A.; DOLAK, J.H.; et al. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. Pharmacol Ther., v. 42, p. 139-54, 1989.
- REEN, R.K.; WIEBEL, F.J.; SING, J. Piperine inhibits aflatoxin B₁-induced cytotoxicity and genotoxicity in V79 Chinese hamster cells genetically engineered to express rat cytochrome P450 B 1. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 58, p. 165-173, 1997.
- REITMAN, S. & FRANKEL, S. A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminases. Am. J. Clin. Path., v. 28, p. 56-63, 1957.
- REMINGTON, J.P. Remington's Pharmaceutical Sciences. 18. ed. Eason: Mack Publishing Company, 1990. pp. 207-227.
- RIADO, S.R.; NOGUEIRA, L.F.; CHAVES, J.S.; et al. Avaliação preliminar do extrato bruto de *Solanum paniculatum* L. como agente hepatoprotetor. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA USF, 1º, Itatiba, 1995. Trabalhos apresentados. pp. 04-05.
-

-
- RIDOUT, C.L.; PRICE, K.R.; COXON, D.T.; et al. Glycoalkaloids from *S. nigrum* L., alpha-solamargine and alpha-solasonine. Pharmazie, v. 44, n. 10, p. 732-733, 1989.
- RIZZINI, C.T. Flora Organensis. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 13, p. 116-244, 1954.
- ROMERO, G.; LASHERAS, B.; SAINZ SUBERVIOLA, L.; et al. Protective effects of calcium channel blockers in carbon tetrachloride-induced liver toxicity. Life Sci., v. 55, p. 981-85, 1994.
- RONALD, J.S. & HOFFENBERG, E.J. Antioxidantes na Doença Gastrointestinal Pediátrica. Clínicas Pediátricas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 2, p. 457-473, 1996.
- ROTH, L.; DAUNDERER, M.; KORMANN, K. Giftpflanzen Pflanzengifte. Landsberg: Ecomed, 1987. pp. 612.
- RUPRAH, M.; MANT, T.G.K.; FLANNAGAN, R.J. Acute carbon tetrachloride poisoning in 19 patients: Implications for diagnosis and treatment. Lancet, Londres, v. 1, p. 1027-29, 1985.

-
- RUSH, G.F.; YODIS, L.A.; ALBERTS, D. Protection of rat hepatocytes from *tert*-butylhydroperoxide-induced injury by catechol. Toxicol. Appl. Pharmacol., v. 84, p. 607-611, 1986.
- RUSU, M.A.; BUCUR, N.; TĂMAS, M. Effects of the *Chrysanthemum balsamita* hydroalcoholic extract upon the intoxicated liver. Fitoterapia, Milano, v. LXV, n. 3, p. 211-213, 1994.
- SACCO, J.C.; et al. Invasoras da cultura do trigo no Rio Grande do Sul. Semente, Porto Alegre, v. 1, n. 1, p. 3-11, 1975.
- SACCO, J.C.; SANTOS, E.; FROMM-TRINTA, E.; et al. Ervas Daninhas do Brasil Solanaceae I Gênero *Solanum* L. - EMBRAPA, Boletim Técnico Brasília: CNPDA, 1985. 104p.
- SAITO, M.L. Formas Farmacêuticas Extrativas. Revista da Universidade São Francisco, Bragança Paulista, v. 6, p. 7-24, 1988.
- SALMI, H. A.; SARNA, S. Effect of silymarin on chemical, functional and morphological alterations of the liver. A double blind controlled study. Scand. J. Gastroenterol., Oslo, v. 17, p. 517-518, 1982.
-

- SAMPAIO, A.J. Nomes vulgares de plantas do Distrito Federal e do Estado do Rio de Janeiro. Boletim do Museu Nacional, Nova Série-Botânica, v. 4, p. 1-149, 1946.
- SANTOS, M.T.; NASSER, A.L.M.; MESIA, V.S.; et al. Atividade antisecretora gástrica de *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) e seus extratos semi-purificados. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, Xº, Serra Negra, 1995. Trabalhos apresentados. pp. 248.
- SANTOS, M.T. ; GONÇALO, M.C.; ATAÍDE, J.R.; et al. Efeito do extrato aquoso (EA) da raiz da *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) no fluxo biliar de cobaias. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIVº, Florianópolis, 1996. Trabalhos apresentados. pp. 101.
- SANTOS, M.T.; LAPA, A.J. Efeito do extrato aquoso da raiz da *Solanum paniculatum* L. (Jurubeba) no fluxo biliar de ratos. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, XIº, Caxambu, 1996. Trabalhos apresentados. pp. 80.
- SANTOS, M.T. Atividades Gastrointestinais e Hepáticas da Jurubeba (*Solanum paniculatum* L.). Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, 1996. 99 p.

-
- SARAF, S.; DIXIT, V.K.; TRIPATHI, S.C.; et al. Hepatoprotective activity of *Tridax procumbens*. Part III. Fitoterapia, Milano, v. LXIII, n. 5, p. 414-416, 1992.
- SARASWAT, B.; VISEN, P.K.S.; PATNAIK, G.K.; et al. Effect of andrographolide against galactosamine-induced hepatotoxicity. Fitoterapia, Milano, v. LXVI, n. 5, p. 415-420, 1995.
- SCHREIBER, K. Isolierung von solasodin-glycosiden aus Pflanzen der Gattung *Solanum* L. Alkaloid XXVIII Mitteilung. Kulturpflanze, v. 11, p. 451-501, 1963.
- SCHREIBER, K. Steroid alkaloids: the *Solanum* group. In: Manske, H.R.F. The alkaloids. New York: Academic Press, 1968.
- SEKAS, G.; COOK, R.T. The evaluation of liver function after partial hepatectomy in the rat: serum changes. Br. J. Exp. Path., v. 60, p. 447-452, 1979.
- SHARMA, A.; CHAKRABORTI, K.K.; HANDA, S.S. Antihepatotoxic activity of some Indian herbal formulations as compared to silymarin. Fitoterapia, Milano, v. LXII, n. 3, p. 229-235, 1991.
-

-
- SHARMA, A.; SINGH, R.T.; SEHGAL, V.; et al. Antihepatotoxic activity of some plants used in herbal formulations. Fitoterapia, Milano, v. LXII, n. 2, p. 131-138, 1991.
- SHARMA, M.C.; DIXIT, S.K.; LAL, S.B.; et al. Effect of na herbal preparation in experimentally induced hepatopathy in goats. Indian Journal Of Animal Sciences, v. 63, n. 6, p. 606-610, 1993.
- SHINADA, M.; AZUMA, M.; KAWAI, H.; et al. Enhancement of interferon- γ production in glycyrrhizin treated human peripheral lymphocytes in response to concanavalin A and to surface antigen of hepatitis B virus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 181, p. 205-210, 1986.
- SHIRWAIKAR, A.; SREENIVASAN, K.K.; KRISHNANAND, B.R.; et al. Chemical investigation and hepatotoxic activity of the root bark of *Capparis spinosa*. Fitoterapia, Milano, v. LXVII, n. 3, p. 200-04, 1996.
- SHOEB, H.A.; EL-SAYED, M.M.; KHALIFA, A.M. Some Egyptian plants with molluscicidal activity. Egyptian Journal of Bilharziasis, v. 12, n. 1-2, p. 35-43, 1990.
-

-
- SHUKLA, B., VISEN, P.K.S.; PATNAIK, G.K.; et al. Choloretic Effect of Andrographolide in Rats and Guinea Pigs. Planta Med., New York, v. 58, p. 146-149, 1992.
- SHUKLA, B.; VISEN, P.K.S.; PATNAIK, G.K.; et al. Choloretic Effect of Picroliv, the Hepatoprotective Principle of *Picrorhiza kurroa*. Planta Med., New York, v. 57, p. 29-33, 1991.
- SILVA, R.A.D. Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. 1. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929.
- SIMS, F.H. & HORN, C. Some Observations on Powell's Method for Determination of Serum Bilirubin. Am. J. Clin. Path., v. 29, p. 412-417, 1958.
- SIPOS, J.; GABOR, V.; TOTH, Z.; et al. In vitro comparison of the effect of levanisole and (+)-cyanidanol-3 upon rosette formation. Int. J. Tiss. Reac., v. 2, p. 167-178, 1980.
- SLATER, T.F. Necrogenic action of carbon tetrachloride in rat: a speculative mechanisms based on activation. Nature, v. 209, p. 36-9, 1966.
-

-
- SMITH, L.B. & DOWNS, R.J. Solanáceas. *In*: Reitz, R. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1966. pp. 1-321.
- SOICKE, H. & LENG-PESCHLOW, E. Characterisation of Flavonoids from *Baccharis trimera* and their Antihepatotoxic Properties. Planta Med., New York, v. 6, p. 37-39, 1987.
- SOUTHORN, P.A. & POWIS, G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. Mayo Clin. Proc., v. 63, n. 4, p. 381-389, 1988.
- SOUZA BRITO, A.R.M. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdevelop countries. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 54, p. 131-138, 1996.
- SPEEG, K.V. & BAY, M.K. Prevenção e tratamento da hepatopatia medicamentosa. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 4, p. 1053-71, 1995.
- SRIVASTAVA, S.; SRIVASTAVA, A.K.; PATNAIK, G.K.; et al. Efecct of picroliv on liver regeneration in rats. Fitoterapia, Milano, v. LXVII, n. 3, p. 252-256, 1996.
-

-
- STEVENS, A. & LOWE, J. Patologia. 1. ed. São Paulo: Manole Ltda., 1996. pp. 23-37.
- SUFTANA, S.; PERWAIZ, S.; IQBAL, M.; et al. Crude extracts of hepatoprotective plants, *Solanum nigrum* and *Chichorium intybus* inhibit free radical-mediated DNA damage. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 43, n. 3, p. 189-192, 1995.
- SUNG, S.H.; KWON, S.H.; CHO, N.J.; et al. Hepatoprotective Flavonol Glycosides of *Saururus chinensis* Herbs. Phytotherapy Research, Chichester, v. 11, p. 500-503, 1997.
- SUZUKI, H.; OHTA, T.; TAKINO, T.; et al. Effects of glycyrrhizin on biological tests in patients with chronic hepatitis. A double blind trial. Asian Med. J., v. 26, p. 423-438, 1983.
- TAJIRI, H.; KOZAIWA, K.; OZAKI, Y.; et al. Effect of Sho-Saiko to (Xiao-Chai-Hu-Tang) on HBsAg clearance in children with chronic hepatitis B virus infection and with sustained liver disease. Am. J. Chin. Med., v. 19, p. 121-129, 1991.
-

- TAMAI, M.; WATANABE, N.; SOMEYA, M.; et al. New Hepatoprotective Triterpenes from *Canarium album*. Planta Med., New York, v. 55, p. 44-47, 1989.
- TAMBURRO, C. Hepatite Química. Patogênese, Detecção e Tratamento. Clínicas Médicas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 63, n. 3, p. 545-566, 1979.
- THABREW, I. M. & HUGHES, R.D. Phytogetic Agents in the Therapy of Liver Disease. Phytotherapy Research, Chichester, v. 10, p. 461-467, 1996.
- THYAGARAJAN, S.P.; JAYARAM, S.; VALLIAMMA, T.; et al. *Phyllanthus amarus* and hepatitis B. Lancet, Londres, v. 2, p. 949-950, 1990.
- TRAIAC, F.J. & BORG, R. Una nuova tereapia dell'insuficienza epatica. Sperimentazione del (+)-cyanidanol-3. Suo interesse nel trattamento dell'epatite alcolica. Minerva Diet. e Gastroent., v. 23, p. 237-242, 1977.
- TROTTER, R.T.; LOGAN, M.H.; ROCHA, J.M.; et al. Ethnography and bioassay: combined method for a preliminary screen of home remedies for potencial pharmacological activity. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 8, p. 113-119, 1982.

-
- TSOKOS-KUHN, J.O. Evidence in vivo for elevation of intracellular Ca^{+2} in the liver after diquat, acetaminophen and CCl_4 . Biochem. Pharmacol., v. 38, p. 3061-65, 1989.
- UBEDA, A.; ESTEVE, M.L.; ALCARAZ, M.J. Effects of flavonoids on Cytochrome P-450 from Rat Liver Microsomes: Inhibition of Enzyme Activities and Protection Against Peroxidative Damage. Phytotherapy Research, Chichester, v. 9, p. 416-420, 1995.
- VAILATA, A.; ARISTIA, L.; SOZZE, E.; et al. Randomized, open study of the dose-effect relationship of a short course of idB1016, in patients with viral or alcoholic hepatitis. Fitoterapia, Milano, v. 64, p. 219-223, 1993.
- VALENZUELA, A.; LAGOS, C.; SCHMIDT, K.; et al. Sylimarin protection against hepatic lipid peroxidation induced by acute ethanol intoxication in the rat. Biochemical Pharmacology, v. 34, n. 12, p. 2.209-2212, 1985.
- VALLOTTON, J.J. & FREI, P.C. Influence of (+)-cyanidanol-3 on the leukocyte migration inhibition test carried out in the presence of PPD and HbsAg. Infection and Immunity, v. 32, p. 432-433, 1981.
-

-
- VAN DER VUSSE, G. & RENEMAN, R.S. Pharmacological intervention in acute myocardial ischemia and reperfusion. Trends. Pharmacol Sci, v. 6, p. 76-9, 1985.
- VENKATESWARAN, S.; PARI, L.; VISWANATHAN, P.; et al. Protective effect of Livex, a herbal formulation against erythromycin estolate induced hepatotoxicity in rats. Journal of Ethnopharmacology, New York, v. 57, p. 161-167, 1997.
- VIEIRA, R.F. & FREIRE DE CARVALHO, L.D.A. Espécies do gênero *Solanum* produtoras de alcalóides esteroidais. Rev. Bras. Farm., São Paulo, v. 74, n. 4, p. 97-111, 1993.
- VILEGAS, W.; POZETTI, G.L.; OLIVEIRA, A.M. Plantas Medicinais da Região de Araraquara: *Solanum cernuum*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIº, João Pessoa, 1990. Trabalhos apresentados. pp. 2.39.
- VISEN, P.K.S.; SHUKLA, B.; PATNAIK, G.K.; et al. Prevention of Galactosamine-Induced Hepatic Damage by Picroliv: Study on Bile Flow and Hepatocytes (ex vivo). Planta Med., New York, v. 59, p. 37-41, 1993.
-

-
- WAGNER, H.; GEYER, B.; FIEBIG, M.; et al. Isobutrin and Butrin, the Antihepatotoxic Principles of *Butea monosperma* Flowers. Planta Med., New York, v. 2, p. 77-79, abril, 1986.
- WALRANT, P.V.F.; BOSSHARD, J.H.Y.; PEREZ, A.C.; et al. Como Detectar Ações Farmacológicas de Extratos Vegetais em Modelos Experimentais *in vivo* ? SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIº, João Pessoa. Trabalhos apresentados. pp. 4.64
- WANG, M.; LA GRANGE, L.; TAO, J.; et al. Hepatoprotective properties of *Silybum marianum* herbal preparation on ethanol-induced liver damage. Fitoterapia, Milano, v. LXVII, n. 2, p. 166-171, 1996.
- WATKINS, P.B. Metabolismo de Drogas pelo Citocromo P₄₅₀ no Fígado e no Intestino Delgado. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 3, p. 503-17, 1992.
- WATT, J. Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. Part II. Michigan: UMI Books on Demand, 1993. pp. 996-1000.
- WEILER, E.W.; KRÜGER, H.; ZENK, M.H. Radioimmunoassay for the Determination of the Steroidal Alkaloid Solasodine and Related
-

-
- Compounds in Living Plants and Herbarium Specimens. Planta Med., New York, v. 39, p. 112-124, 1980.
- WILLIAMS, D.H.; STONE, M.J.; HAUK, P.R.; et al. Why are secondary metabolites (natural products) biosynthesized ? Journal of Natural Products, v. 52, n. 6, p. 1189-1208, 1989.
- WONG, S.-M.; WONG, M.M.; SELIGMANN, O.; et al. New Antihepatotoxic Naphtho-pyrone Glycosides from the Seeds of *Cassia tora*. Planta Med., New York, v. 55, p. 276-280, 1989.
- YANG, L.-L.; YEN, K.-Y.; KONNO, C.; et al. Antihepatotoxic Principles of *Wedelia chinensis* Herbs. Planta Med., New York, v. 6, p. 499-500, dezembro, 1986.
- YEN, M.-H.; LIN, C.-C.; CHUANG, C.-H.; et al. Anti-inflammatory and hepatoprotective activity of saikosaponin-f and the root extract of *Bupleurum kaoi*. Fitoterapia, Milano, v. LXV, n. 5, p. 409-417, 1994.
- YOUNES, M. & SIEGERS, C.-P. Inhibitory Action of some Flavonoids on Enhanced Spontaneous Lipid Peroxidation Following Glutathione Depletion. Planta Med., New York, v. 43, p. 240-244, 1981.
-

YSHIMINE, A.K.; TABATA, A.; SILVA, R.O.; et al. Efeitos do tratamento crônico com o extrato de *Solanum paniculatum* L. na fertilidade e na capacidade reprodutora de ratos. I. Efeitos na geração F1. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, XIIIº, Fortaleza, 1994. Trabalhos apresentados. pp. 332.

YUKI, T. & THURMAN, R.G. The swift increase in alcohol metabolism. Time course for the increase in hepatic oxygen uptake and the involvement of glycolysis. Biochem. J., v. 186, p. 119-126, 1980.

YUYAMA, L.K.O. & COZZOLINO, S.M.F. Radicais Livres e Micronutrientes Antioxidantes. REV. UA. Série: Ciências da Saúde, Manaus, v. 3, n. 1/2, p. 47-67, jan./dez., 1994.

ZIMMERMAN, H.J. Doenças Hepática Crônica Induzida por Medicamento. Clínicas Médicas da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 63, n. 3, p. 567-81, 1979.

ZIMMERMAN, H.J. Serum enzyme measurement in experimental hepatotoxicity. Israel J. Med. Sci., v. 10, n. 4, p. 328-332, 1974.

- ZIMMERMAN, H.J. & LEWIS, J.H. Hepatotoxicidade induzida por substâncias químicas e por toxinas. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 1033-51, 1995.
- ZIMMERMAN, H.J. & ISHAK, K.G. Aspectos Gerias da Hepatopatia Medicamentosa. Clínicas de Gastroenterologia da América do Norte, Rio de Janeiro, v. 24, n. 4, p. 745-763, 1995.
- ZIMMERMAN, H.J.; KODERA, Y.; WEST, M. Rate of increase in plasma levels of cytoplasmatic and mitochondrial enzymes in experimental carbon tetrachloride hepatotoxicity. J. Lab. Clin. Med., v. 66, p. 315-323, 1965.
- ZIMMERMAN, H.J.; LEWIS, J.H. Drug-induced cholestasis. Med. Toxicol., v. 2, p. 112-160, 1987.
- ZIMMERMAN, H.J. & MADDREY, W.C. Toxic and drug-induced hepatitis. In Schiff, L.; Schiff, E.R. (eds): Disease of Liver, 5. ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1993. pp 707-783.
- ZUIN, M.; BATTEZZATI, P.M.; CAMISASCA, M.; et al. Effects of a preparation containing a standardized ginseng extract combined with trace elements and multivitamins against hepatotoxin-induced chronic liver disease in the elderly. J. Int. Med. Res., v. 15, p. 276-281, 1987.

CÓDIGO
PRODUTO

6 0 0 3

NUVILAB CR-1 AUTOCLAVÁVEL

(Ração para animais de laboratório)

COMPOSIÇÃO BÁSICA DO PRODUTO: Carbonato de Cálcio, Farelo de Soja, Farelo de Trigo, Fosfato Bicálcico, Milho Integral Moído, Cloreto de Sódio, Premix Vitaminico Mineral Aminoácido, Farinha de Peixe, Farinha de Carne.

EVENTUAIS SUBSTITUTIVOS: Farelo de alfafa, Farelo de arroz, Farelo de girassol, Farelo de milho, Farinha de conchas de ostras tipo um, Farinha de penas hidrolizadas, Farinha de sangue, Soro de leite em pó, Cevada, Gordura animal estabilizada, Solúveis de pescado dessecados.

NÍVEIS DE GARANTIA POR QUILOGRAMA DO PRODUTO:

Cálcio (máx.)	1,40 %
Extrato etéreo (mín.)	3,00 %
Fósforo (mín.)	0,60 %
Matéria Fibrosa (máx.)	9,00 %
Matéria Mineral (máx.)	10,00 %
Proteína Bruta (mín.)	22,00 %
Umidade (máx.)	12,50 %

ENRIQUECIMENTO POR QUILOGRAMA DO PRODUTO:

Vitaminas: Vitamina A 25.200 UI; Vitamina D3 2.100 UI; Vitamina E 60,00 mg; Vitamina K3 12,50 mg; Vitamina B1 14,40 mg; Vitamina B2 11,00 mg; Vitamina B6 12,00 mg; Vitamina B12 6,00 mcg; Ácido Nicotinico 52,50 mg; Ácido Pantotênico 112,00 mg; Ácido Fólico 6,00 mg; Biotina 0,26 mg; Colina 1.100,00 mg.

Microelementos Minerais: Ferro 50,00 mg; Zinco 60,00 mg; Cobre 10,00 mg; Iodo 2,00 mg; Manganês 60,00 mg; Selênio 0,05 mg; Cobalto 1,50 mg.

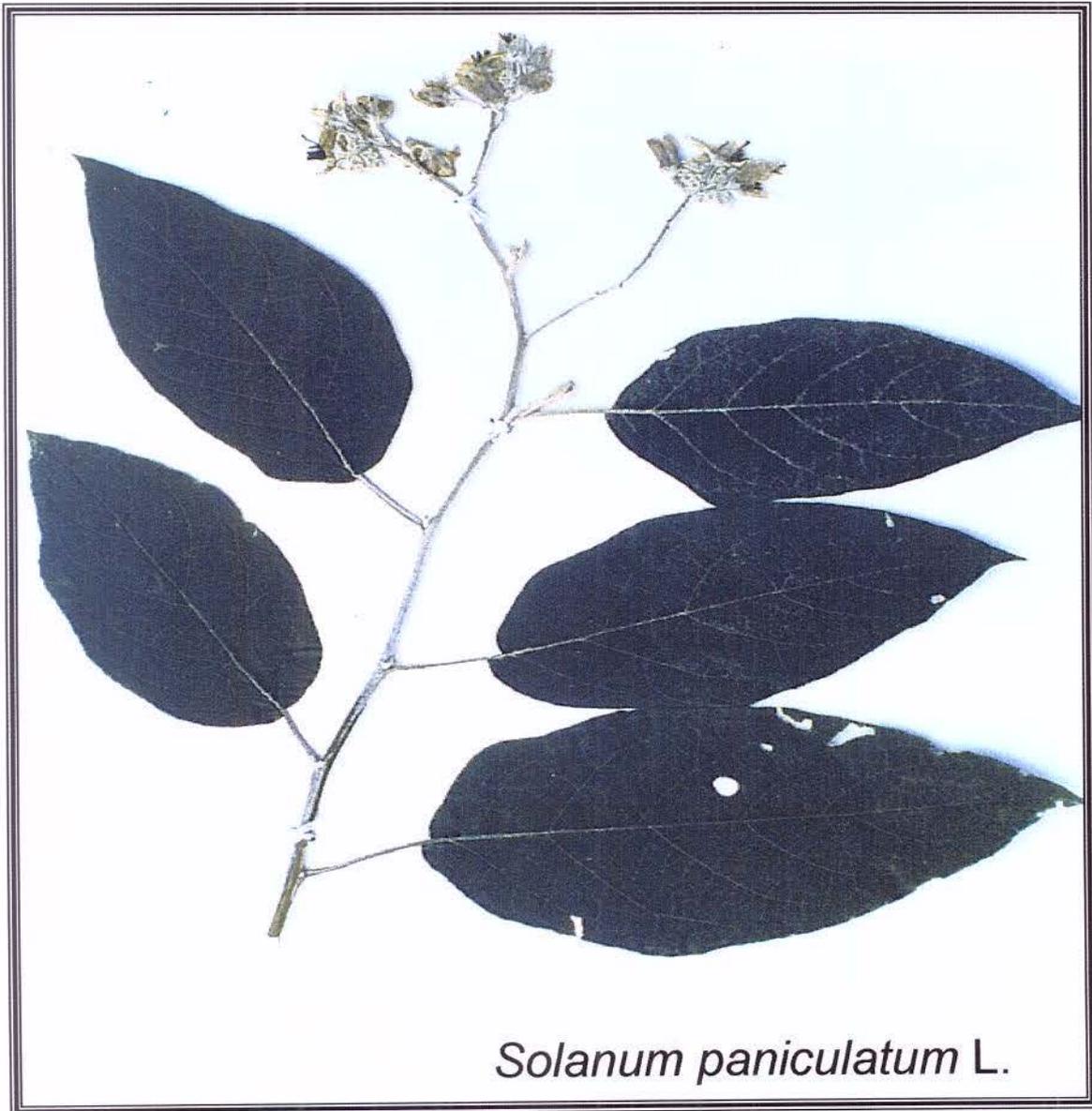
Aminoácidos: Metionina 300,00 mg; Lisina 100,00 mg.

Aditivo: Antioxidante 100,00 mg.

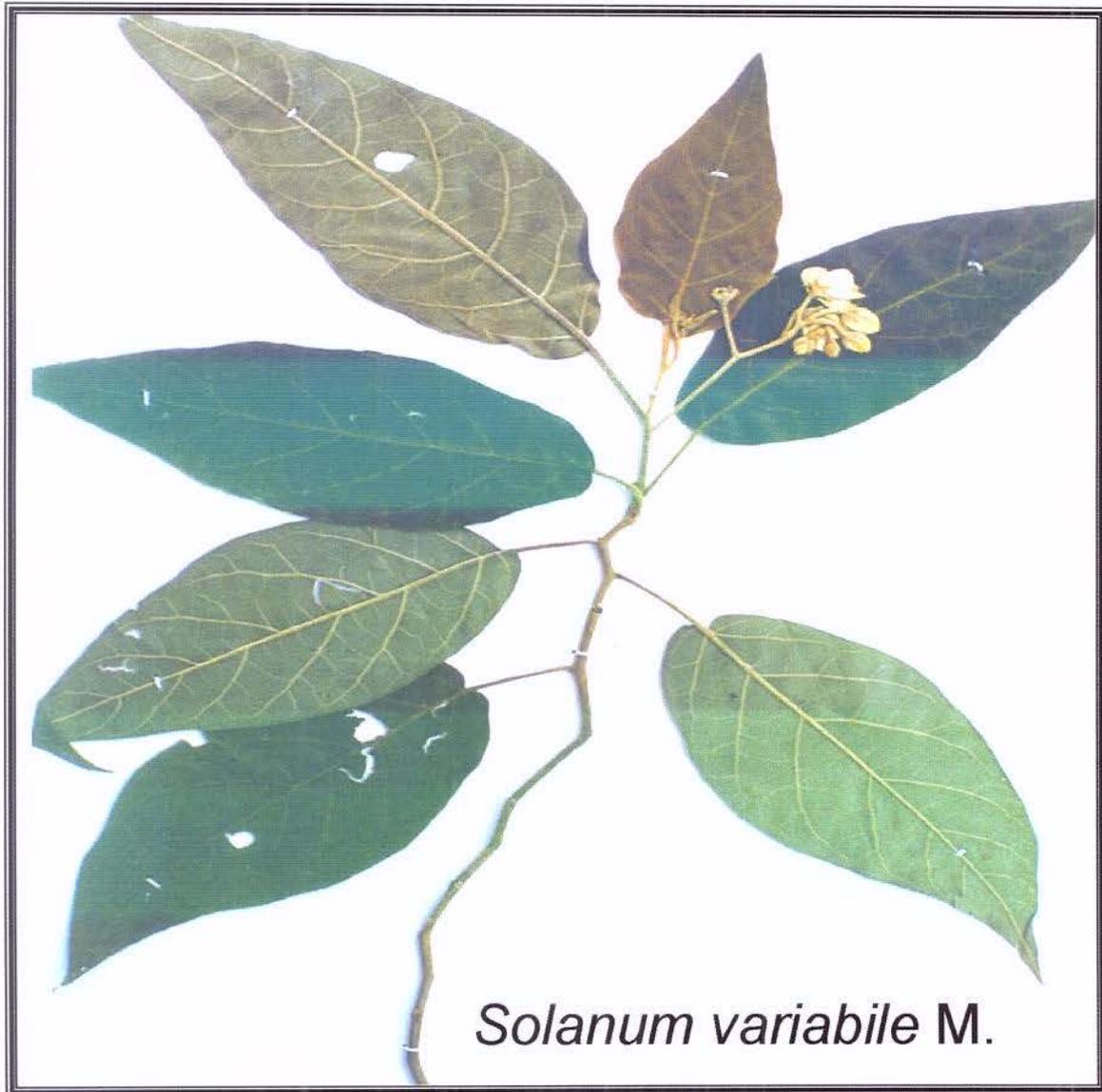
MODO DE USAR: Alimento equilibrado para camundongos e ratos de laboratório. Administração à vontade através de comedouros suspensos.

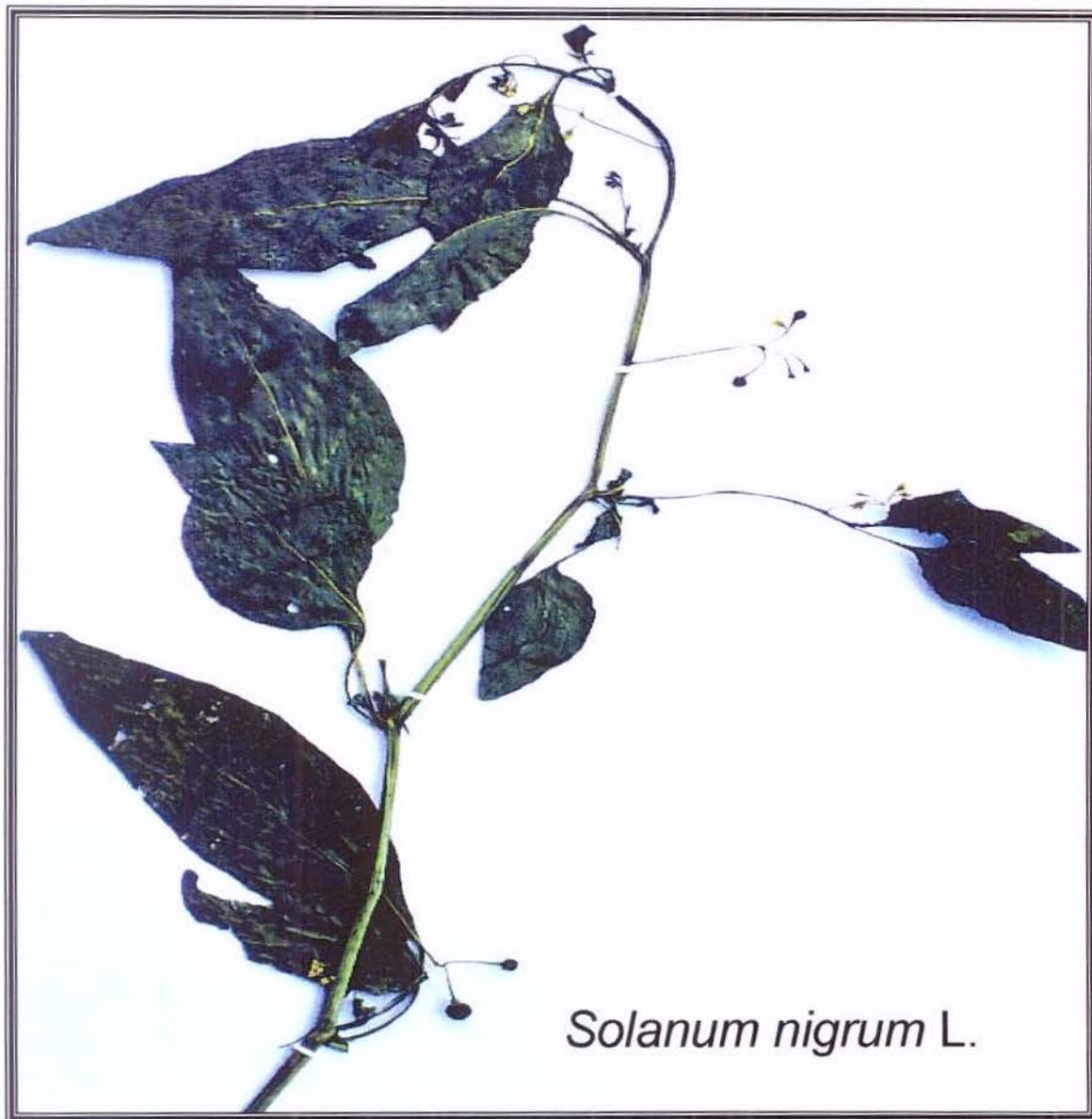
CONSERVAÇÃO: Conservar em ambiente seco e arejado, evitando-se luz e calor excessivos.

RÓTULO REGISTRADO NO MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
E REFORMA AGRÁRIA SOB Nº 4453.00118
INDÚSTRIA BRASILEIRA

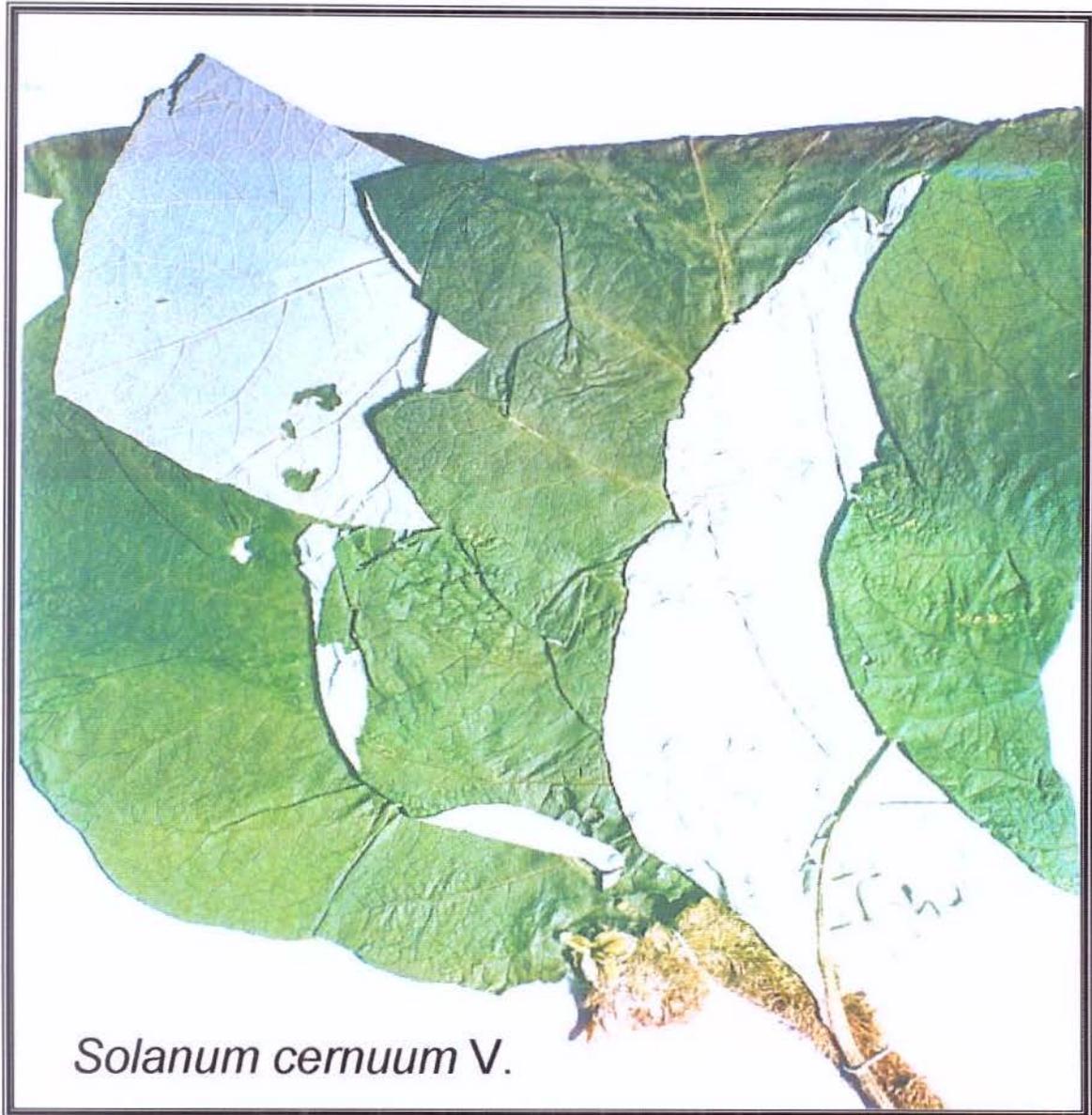


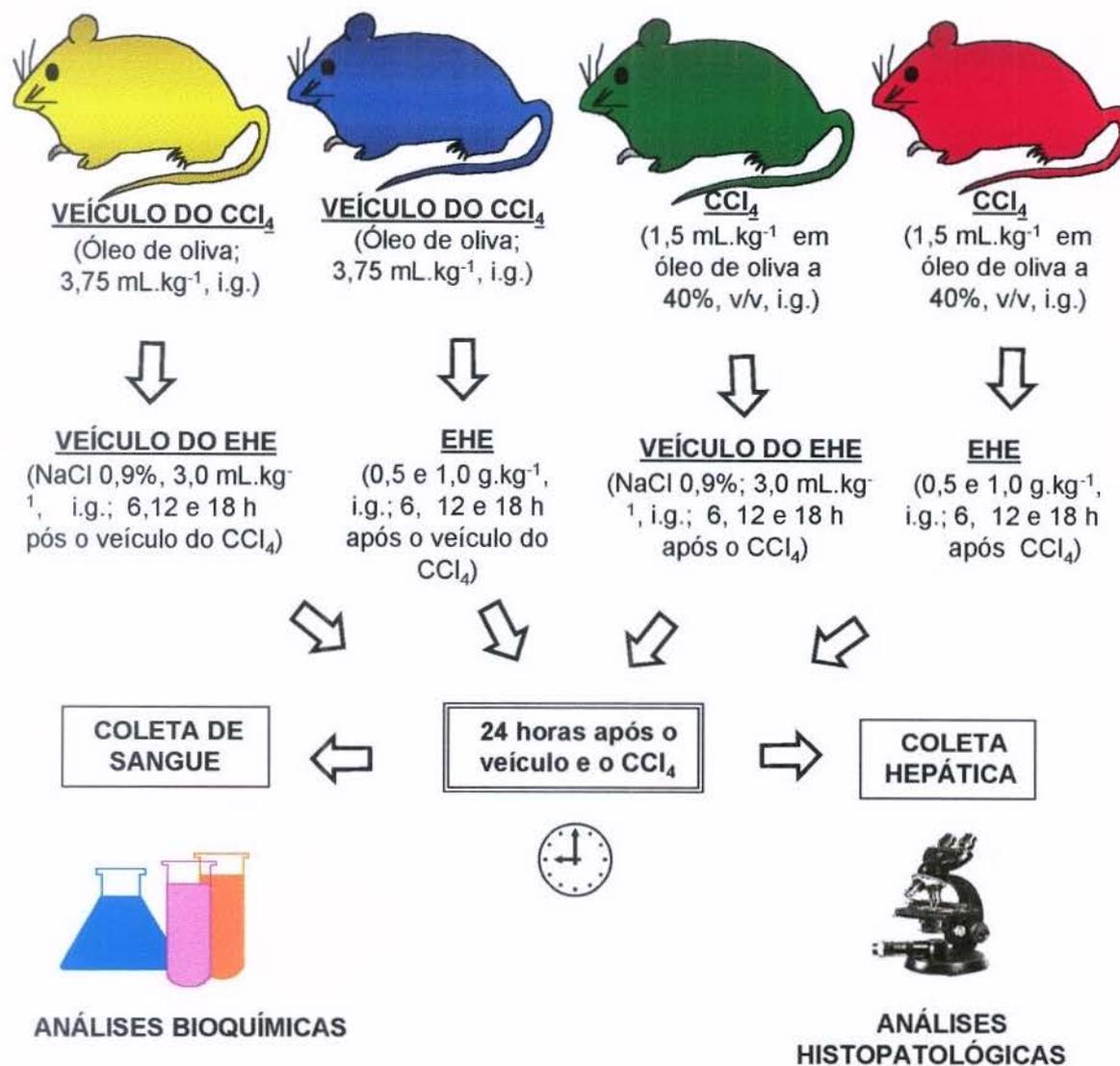
Solanum paniculatum L.



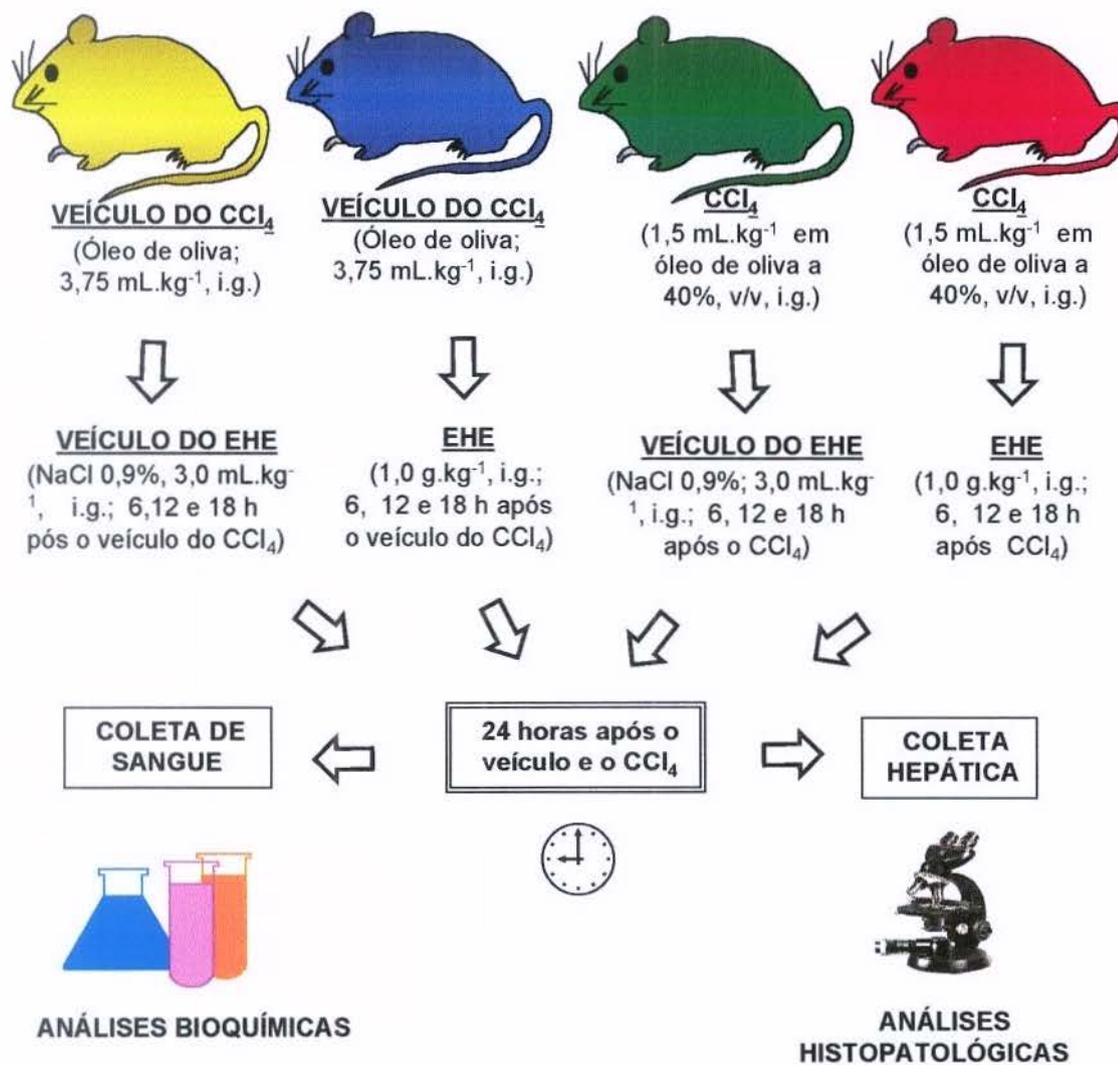


Solanum nigrum L.





ESQUEMA 1 - Esquema do protocolo experimental para a espécie *S. paniculatum* L.



ESQUEMA 2 - Esquema do protocolo experimental para as espécies *Solanum variable* Mart., *Solanum nigrum* L. e *Solanum cernuum* Vell.