

Influência de extratos hidroetanólicos de plantas medicinais sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos

Presibella, M. M.¹; Santos, C. A. M.²; Weffort-Santos, A. M.^{3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. ²Departamento de Farmácia;

³Departamento de Patologia Médica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

Recebido para publicação em: 10/10/2003
Aceito para publicação em: 28/11/2003

RESUMO: Vários métodos *in vitro* têm sido empregados para a investigação das atividades biológicas de plantas usadas na medicina popular para o tratamento de processos inflamatórios. Neste trabalho, investigou-se a influência dos extratos hidroetanólicos de *Rauvolfia sellowii* Muell. Arg, *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil) Hassler e *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don, conhecidas popularmente como pau-pra-tudo, canela-de-veado e cipó-suma, respectivamente, sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos, estimulados a migrar contra um gradiente de caseína, utilizando-se o método de Boyden. A dexametasona foi utilizada como substância de referência da inibição da quimiotaxia leucocitária. Os resultados demonstraram efeito inibitório significativo de todos os extratos das plantas testadas, sobre a migração de polimorfonucleares, induzida por caseína. Entretanto, essa atividade variou de intensidade conforme a concentração e a espécie estudada. Efeitos máximos foram observados, nas concentrações de 1000, 10 e 1µg/ml com os extratos de pau-pra-tudo, canela-de-veado e cipó-suma, respectivamente, com migração de 81,6±3,9%; 85,4±2,4% e 91,7±2,2% dos polimorfonucleares, enquanto que, com a dexametasona, este efeito foi de 70,3±5,9%. Embora estudos mais aprofundados sejam necessários, os resultados apresentados podem servir como base preliminar de dados, contribuindo para esclarecer o mecanismo da atividade antiinflamatória atribuída às essas plantas na medicina caseira.

Unitermos: *Rauvolfia sellowii*; *Hybanthus bigibbosus*; *Anchieta pyrifolia*; plantas medicinais; migração leucocitária; caseína; inflamação; quimiotaxia.

ABSTRACT: Influence of some medicinal plant hydroethanolic extracts on human leukocyte chemotaxis. Several *in vitro* methods have been used for the investigation of the biological activities of plants used in folk medicine for the treatment of inflammatory conditions. In this study, we have investigated the ability of the hydroethanolic extracts from *Rauvolfia sellowii* Muell. Arg, *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil) Hassler, and *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don, locally known as pau-pra-tudo, canela-de-veado, and cipó-suma, respectively, in interfering with the human leukocytes migration induced by casein, using the Boyden chamber method. Dexamethasone has been used as a positive control for leukocyte inhibition in the same experimental approach. The data herein presented showed a significant inhibition of the casein-induced polymorphonuclear leukocytes migration for all plants studied. However, the intensity of such activity was variable according to the dose and plant tested. For pau-pra-tudo, canela-de-veado, and cipó-suma extracts the average number of migrated polymorphonuclear leukocytes was 81.6±3.9%, 85.4±2.4% and 91.7±2.2% of the input for the doses of 1000, 10, and 1mg/ml, respectively, while for dexamethasone, the value found was 70.3±5.9%. Although further studies are needed, the results presented in this study may be useful to clarify the anti-inflammatory properties of these herbal medicines, supporting their ethnobotanical use for the treatment of inflammatory diseases.

Key words: *Rauvolfia sellowii*; *Hybanthus bigibbosus*; *Anchieta pyrifolia*; medicinal plants; leukocyte migration; casein; inflammation; chemotaxis.

INTRODUÇÃO

No decorrer de um processo inflamatório, os leucócitos circulantes no sangue periférico aproximam-se da parede vascular estimulados por mediadores da inflamação liberados na área de lesão, passando a ocupar uma posição mais periférica. Em seguida, tornam-se transitoriamente aderidos ao endotélio e atravessam a parede do vaso. Após diapedese, continuam a migrar em direção ao foco inflamatório pelo processo de quimiotaxia, com o objetivo maior de eliminar o agente causal e restabelecer o tecido lesado (DEKKER; SEGAL, 2000).

Quando exacerbada, a reação inflamatória pode ser potencialmente prejudicial. Nessa situação, necessário se faz o uso de fármacos com atividade antiinflamatória, os quais irão interferir em uma ou mais etapas da cascata de eventos, que caracterizam a resposta inflamatória, particularmente, aquelas que se relacionam com os mecanismos de adesão e migração dos leucócitos (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 1994).

As características mais comuns a todos os antiinflamatórios disponíveis no mercado e, em particular, os glicocorticóides, são seus efeitos colaterais indesejáveis e o alto custo. A variabilidade de climas e regiões no Brasil favorece o desenvolvimento de uma incomparável biodiversidade vegetal. Dentro dela, há um grande número de plantas usadas na medicina popular com finalidades terapêuticas específicas. Por exemplo, as raízes de *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil.) Hassler, popularmente conhecida como canela-de-veado, e as folhas de *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don, ou cipó-suma, são utilizadas por pacientes portadores de quadros alérgicos, além de ter registrado seu uso como depurativo. Já as cascas de *Rauvolfia sellowii* Muell. Arg., ou pau-pra-tudo, são usadas por indivíduos diabéticos ou que necessitam diminuir os níveis séricos de colesterol (SILVA et al., 2002), além de seu uso como antihipertensivo (BATISTA et al., 1996).

Em contraste com a vasta literatura existente para várias plantas usadas na medicina brasileira tradicional, para as plantas *Rauvolfia sellowii* Muell. Arg., *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil.) Hassler e *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don, estudos que pudessem delinear ou esclarecer aspectos importantes referentes às suas propriedades farmacológicas são escassos ou mesmo inexistentes. Dessa forma, elas tornaram-se alvo de nosso interesse, amparadas não só no fato de serem plantas muito usadas na medicina caseira da região sudoeste paranaense, mas, principalmente, porque suas indicações de uso estão, de uma forma ou de outra, relacionadas a aspectos envolvidos com a resposta inflamatória.

Este trabalho tem por finalidade descrever os estudos experimentais utilizados na investigação da atividade antiinflamatória, particularmente, sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos, dos extratos hidroetanólicos das cascas de pau-pra-tudo, das raízes e rizomas de canela-de-veado e das folhas de cipó-suma.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As plantas medicinais usadas neste trabalho foram coletadas entre os meses de fevereiro e dezembro de 1998, na área onde hoje se situa a represa da usina hidrelétrica de Salto Caxias, no sudoeste do Paraná. Após serem identificadas e classificadas de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (MCNEILL et al., 2000), exemplares foram depositados no herbário do Departamento de Botânica da UFPR, sob a seguinte codificação: cascas de *Rauvolfia sellowii* (Muller. Arg.) – Apocynaceae, registro 42.384; raízes de *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil.) Hassler - Violaceae, registro 42.366 e folhas de *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don - Violaceae, registro 42.427.

Preparação dos extratos

O material botânico seco pulverizado (50g) foi macerado em etanol 20% (200ml) por 48h. Após serem filtrados, os extratos foram levados à secura por evaporação em banho-maria à 37°C, ressuspensos em PBS – NaH₂PO₄·2H₂O (150mmol/l), Na₂HPO₄ (150mmol/l), NaCl (154mmol/l), pH 7,2 - (20ml), esterilizados por filtração, aliquotados e mantidos a -20°C.

Abordagem fitoquímica

Os extratos foram submetidos a testes para pesquisa de flavonóides, alcalóides, saponinas, taninos, glicosídeos cardiotônicos e antraquinonas, de acordo com metodologia clássica (MATTOS, 1988).

Leucócitos humanos

A utilização de leucócitos humanos para este trabalho foi aprovada pelos Comitês de Ética Médica do Hospital Geral de Curitiba e do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná; cinco a quinze mililitros de sangue periférico de voluntários colhidos com EDTA-K₃ foram centrifugados por 25min a 800g; subsequentemente, a porção rica em leucócitos foi transferida para um tubo cônico contendo solução hemolisante (solução A: NH₄Cl 654,2mM/l, KCl 24,8mM/l, Na₂HPO₄·H₂O 6,5mM/l, KH₂PO₄ 0,88mM/l, glucose 27,8mM/l, vermelho de fenol 0,05g/l; solução B: MgCl₂·6H₂O 2,06mM/l, MgSO₄·7H₂O 0,6mM/l, CaCl₂ 3,4mM/l; solução C: NaHCO₃ 26,8mM/l, pH 7,2; antes do uso, 4:1:1 partes das soluções A, B e C foram, respectivamente, adicionadas a quatorze partes de água). Após homogeneização constante, por 8min, à temperatura ambiente, os leucócitos recuperados do sedimento após centrifugação (5min/800g) foram lavados e ressuspensos em PBS suplementado com soroalbumina bovina 0,25% (p/v), glucose 0,1% (p/v), CaCl₂ (0,9mM/l) e MgCl₂ (0,5mM/l).

Viabilidade e toxicidade celulares

A viabilidade dos leucócitos, assim como eventuais efeitos citotóxicos causados pelos reagentes, fármacos ou extratos em teste foram avaliados pelo teste de exclusão com azul de tripano (MERCHANT; KAHN; MURPHY, 1964). Somente amostras contendo ≥ 95% de células viáveis foram utilizadas nos experimentos.

Quimiotaxia leucocitária

Para o estudo da locomoção dos leucócitos em direção à caseína, utilizou-se a técnica de Boyden (BOYDEN, 1962), com algumas modificações. Filtros de policarbonato isentos de polivinilpirrolidona (Nuclepore; Neuroprobe), com poros de 5mm de diâmetro, foram usados para separar os compartimentos superior e inferior das câmaras. Uma solução de caseína a 0,5% (p/v) foi adicionada aos compartimentos inferiores, enquanto que os compartimentos superiores foram preenchidos com suspensão de leucócitos (10⁶/ml). As câmaras foram incubadas a 37°C, por 90min, e os leucócitos que migraram ativamente para os compartimentos inferiores foram recuperados e enumerados, usando-se um hemocitômetro. O efeito dos extratos hidroetanólicos sobre a quimiotaxia leucocitária foi avaliado após o tratamento dos leucócitos humanos, por 30 min a 37°C, com concentrações crescentes (0,1 a 10³mg/ml) desses extratos ou com fosfato dissódico de dexametasona (Prodome) (10⁻⁷M) antes da migração. O monitoramento do movimento

espontâneo dos leucócitos foi executado de forma similar, porém PBS suplementado foi adicionado ao compartimento inferior da câmara e os resultados obtidos foram utilizados como controle.

Análise estatística

Os resultados foram apresentados como a média \pm erro padrão da média. Para análise estatística dos resultados, utilizou-se o teste *t* de Student e diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A abordagem fitoquímica clássica para identificação dos grupos químicos presentes em cada um dos extratos vegetais investigados neste trabalho demonstrou reação forte para alcalóides no extrato de pau-pra-tudo, e moderada presença no extrato de canela-de-veado. Enquanto quantidades variáveis de saponinas foram evidenciadas em todos os extratos, a presença de flavonóides, taninos, glicosídeos cardiotônicos e antraquinonas não foi detectada nas amostras testadas.

Os resultados do tratamento prévio de leucócitos humanos com dexametasona e com concentrações crescentes dos extratos hidroetanólicos de pau-pra-tudo, cipó-suma e canela-de-veado estão apresentados nas Figuras 1, 2 e 3, respectivamente, onde cada coluna representa, na concentração indicada, a percentagem média de células recuperadas no compartimento inferior das câmaras em relação à população controle, não tratada, normalizada em 100%.

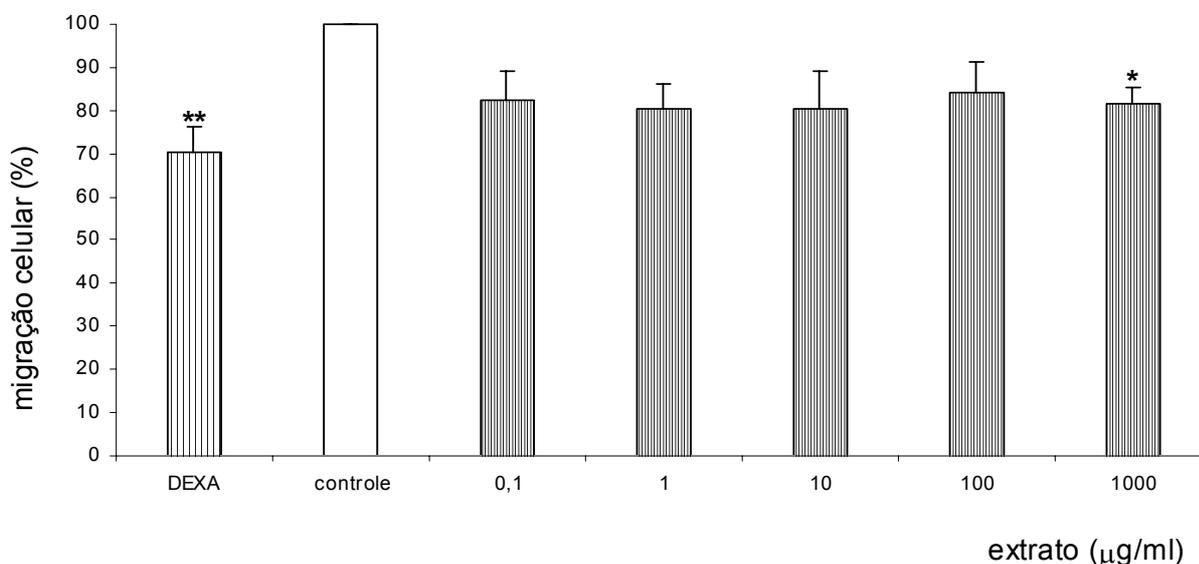


Figura 1. Efeito do extrato hidroetanólico de *Rauvolfia sellowii* Muell. Arg. (pau-pra-tudo) sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos induzida por caseína. Leucócitos humanos obtidos de doadores sadios foram incubados, por 30min, a 37°C, com dexametasona ($10^{-7}M$ ) ou extrato hidroetanólico de pau-pra-tudo () , nas concentrações indicadas, e induzidos a migrar contra um gradiente de caseína 1% (p/v) por 90min, a 37°C, em câmara de Boyden. Cada coluna representa a média \pm 1 erro padrão da média da percentagem de células migradas em relação àquelas não-tratadas, normalizada em 100% () , de experimentos independentes submetidos às mesmas condições (n=3-17; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,005$).

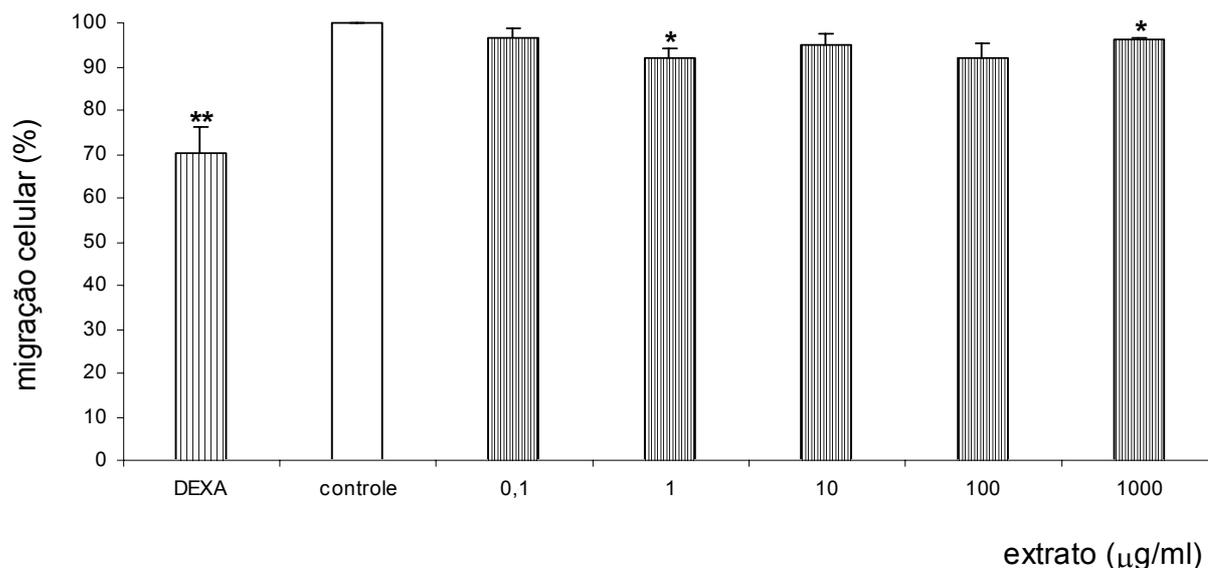


Figura 2. Efeito do extrato hidroetanólico de *Anchieta pyrifolia* (Mart.) G. Don (cipó-suma) sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos induzida por caseína. Leucócitos humanos obtidos de doadores saudáveis foram incubados, por 30min, a 37°C, com dexametasona ($10^{-7}M$ ▤) ou com extrato hidroetanólico de cipó-suma (▨), nas concentrações indicadas, e induzidos a migrar contra um gradiente de caseína 1% (p/v) por 90min, a 37°C, em câmara de Boyden. Cada coluna representa a média \pm 1 erro padrão da média da porcentagem de células migradas em relação àquelas não-tratadas, normalizada a 100% (□), de experimentos independentes submetidos às mesmas condições (n=3-17; * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,005$).

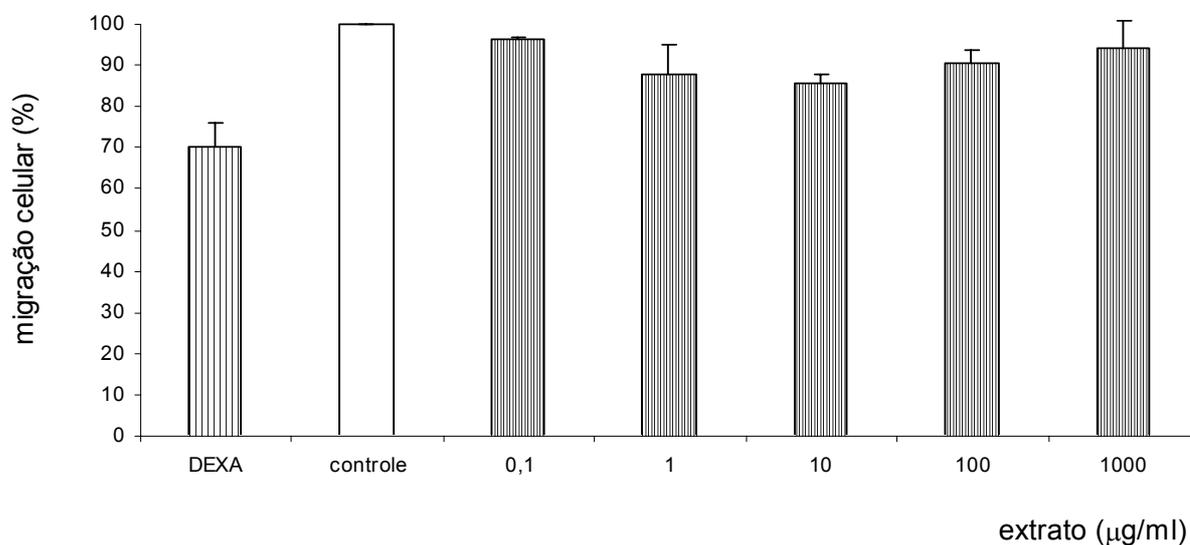


Figura 3. Efeito do extrato hidroetanólico de *Hybanthus bigibbosus* (St.-Hil.) Hassler (canela-de-veado) sobre a quimiotaxia de leucócitos humanos induzida por caseína. Leucócitos humanos obtidos de doadores saudáveis foram incubados por 30min, a 37°C, com dexametasona ($10^{-7}M$ ▤) ou extrato hidroetanólico de canela-de-veado (▨), nas concentrações indicadas, e induzidos a migrar contra um gradiente de caseína 1% (p/v), por 90min, a 37°C, em câmara de Boyden. Cada coluna representa a média \pm 1 erro padrão da média da porcentagem de células migradas em relação àquelas não-tratadas, normalizada a 100% (□), de experimentos independentes submetidos às mesmas condições (n=3-17; ** $p \leq 0,005$; *** $p \leq 0,01$).

A exposição de leucócitos humanos ao extrato de pau-pra-tudo resultou em semelhante inibição da migração de polimorfonucleares, induzida por caseína, com todas as concentrações testadas. Na concentração de 1000µg/ml, a maior utilizada, observou-se que somente 81,6±3,9% de células foram recuperadas no compartimento inferior da câmara, sendo este efeito estatisticamente significativo quando comparado à população celular não tratada (n=3; p≤0,05).

Quanto ao extrato de cipó-suma, foi observado efeito inibitório, com todas as concentrações testadas: 91,7±2,2% (n=4, p≤0,05) e 96,1±0,7% (n=3, p≤0,05) das células recuperadas após migração, nas concentrações de 1 e 1000µg/ml, respectivamente.

Já o tratamento de leucócitos com o extrato de canela-de-veado apresentou um perfil totalmente diferente daqueles apresentados pelos outros dois extratos, mostrando uma inibição significativa dose-dependente direta da migração de polimorfonucleares, induzida pela caseína até a concentração de 10µg/ml, quando 85,4±2,4% (n=4; p≤0,01) dos polimorfonucleares foram recuperados do compartimento inferior. A dexametasona foi capaz de inibir, de forma significativa, a quimiotaxia de polimorfonucleares, induzida por caseína, no modelo experimental usado, sendo que 70,3±5,9% (n=17; p≤0,005) dos leucócitos foram recuperados.

DISCUSSÃO

A resposta inflamatória envolve várias etapas, com o objetivo maior de recrutar populações celulares distintas, capazes de eliminar o agente causal, com concomitante reparo do tecido lesado. Quando este processo torna-se exacerbado, ultrapassando os seus efeitos salutares, há a necessidade de se usar agentes que interfiram em uma ou mais dessas etapas. Muitas plantas têm sido utilizadas na medicina tradicional não só pela sua eficiência em atenuar ou mesmo eliminar os efeitos indesejáveis da resposta inflamatória, mas também pela facilidade de acesso e, principalmente, pelo seu baixo custo.

Neste trabalho em particular, investigou-se o potencial de plantas, tradicionalmente usadas na medicina caseira do sudoeste paranaense, no recrutamento de fagócitos do sangue periférico, etapa fundamental da resposta inflamatória, usando-se o sistema de Boyden como modelo experimental, o qual tem se mostrado útil como metodologia para investigar o efeito de substâncias extraídas de plantas sobre a quimiotaxia de leucócitos (HOFBAUER et al., 1999, MULLER et al., 1999, HOFBAUER et al., 2000, CHEN; OPPENHEIM; HOWARD, 2001; SHEN et al., 2001).

Os resultados aqui apresentados mostraram que os extratos hidroetanólicos de pau-pra-tudo, canela-de-veado e cipó-suma possuem, embora com intensidade e concentrações variadas para cada planta testada, a habilidade de interferir na quimiotaxia de polimorfonucleares, investigada num sistema *in vitro*, específico para avaliar esta função. Importante ressaltar que a inibição observada não foi resultante de efeitos citotóxicos dos extratos ou da dexametasona sobre os leucócitos, pois em todos os ensaios, a viabilidade desses sempre se mostrou superior a 95%, avaliada com azul de tripano. Portanto, é possível que a atividade antiinflamatória atribuída a essas plantas na medicina caseira possa estar em parte relacionada à sua capacidade de interferir nos mecanismos, que envolvem o recrutamento de células envolvidas na resposta inflamatória.

Efeitos inibitórios de extratos de plantas medicinais sobre a quimiotaxia de polimorfonucleares já foram descritos para extratos de outras plantas. Por exemplo, o extrato das folhas de *Phyllanthus emblica* L. reduziu cerca de 95% a quimiotaxia de polimorfonucleares humanos induzida por LTB₄ e fMLP (INHANTOLA-VORMISTO et al., 1997), enquanto que 25% de inibição foi verificado para o extrato de *Allium sativum* (alho) (HOFBAUER et al., 2001). O extrato de chá verde, em várias concentrações, também, se mostrou eficiente em inibir a quimiotaxia de polimorfonucleares (HOFBAUER et al., 1999, DONA et al., 2003).

Entretanto, nenhum dos extratos investigados neste trabalho promoveu efeito marcante como o descrito para as plantas acima citadas ou mesmo próximo ao efeito causado pela

dexametasona, corticóide utilizado em nossos experimentos como controle positivo de inibição leucocitária. Pelo contrário, os efeitos aqui observados, embora significativos em comparação a população não tratada, foram farmacologicamente modestos em relação aos efeitos causados pela dexametasona, especialmente para o extrato de cipó-suma. Interessante notar que a abordagem fitoquímica demonstrou presença de alcalóides somente nos extratos de pau-pratudo e canela-de-veado, enquanto saponinas foram reveladas em todos os extratos estudados.

Alcalóides (ROBERTS et al., 1982, BUCK et al., 1986; AKBAY et al., 2003) e saponinas (SONODA et al., 1998) isolados de extratos de plantas medicinais têm demonstrado capacidade de interferir nos mecanismos responsáveis pela locomoção de leucócitos. As plantas do gênero *Rauwolfia* são fontes ricas de alcalóides, sendo que vários deles já foram identificados (Batista et al., 1996), particularmente para a *R. sellowii*, Müll. Arg, espécie aqui estudada (HOCHSTEIN, 1955, PAKRASHI et al., 1955; BATISTA et al., 1996). Nossos estudos revelaram a presença de quantidades apreciáveis de saponinas nesta espécie, a qual não tinha sido até então relatada. Neste contexto, interessante seria submeter frações enriquecidas com essas substâncias a ensaios semelhantes aos aqui realizados, e avaliar seu potencial sobre a quimiotaxia leucocitária.

Apesar dos extratos testados no presente trabalho terem apresentado resultados sugestivos de sua participação na quimiotaxia, não se pode excluir a possibilidade de um envolvimento dessas plantas em outros mecanismos intracelulares, que regulam e medeiam a resposta inflamatória, como, por exemplo, interferindo nos mecanismos que envolvem a atividade de enzimas chaves na ativação das etapas seqüenciais da resposta inflamatória, os quais interfeririam direta ou indiretamente no recrutamento de polimorfonucleares ao sítio inflamatório, não demonstrados no modelo experimental usado.

Estudos mais aprofundados, através de modelos experimentais específicos, que investiguem esses mecanismos contribuiriam, sem dúvida, para o entendimento das bases científicas pelas quais o uso dessas plantas em fitoterapia na área da inflamação é tão explorado pela população.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Companhia Paranaense de Energia Elétrica (COPEL) pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKBAY, P.; BASARAN, A.A.; UNDEGER, U.; BASARAN, N. *In vitro* immunomodulatory activity of flavonoid glycosides from *Urtica dioica* L. *Phytotherapy Research*, v.17, n.1, p.34-37, 2003.
- BATISTA, C.V.F.; SCHRIPSEMA, J.; VERPOORTE, R.; RECH, S.B.; HENRIQUES A.T. Indole alkaloids from *Rauwolfia sellowii*. *Phytochemistry*, v.41, n.3, p.969-973, 1996.
- BOYDEN, S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. *Journal of Experimental Medicine*, v.115, p.453-466, 1962.
- BUCK, M.G.; SCHACHTER, E.N.; FICK, R.B.; MERRILL, W.W.; COOPER, J.A.; Jr., KEIRNS, J.J.; OLIVER, J.; WALL, J.H. Biologic activity of purified cotton bract extracts in man and guinea pig. *Environmental Health Perspectives*, v.66, p.37-44, 1986.
- CHEN, X.; OPPENHEIM, J.; HOWARD, Z.O.M. Shikonin, a component of antiinflammatory chinese herbal medicine, selectively blocks chemokine binding to CC chemokine receptor-1. *International Immunopharmacology*, v.1, p.229-236, 2001.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Robbins. *Pathologic basis of disease*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994.
- DEKKER, L.V.; SEGAL, A.W. Signals to move cells. *Science*, v.287, n.11, p.982-984, 2000.

- DONA, M.; DELL'AICA, I.; CALABRESE, F.; BENELLI, R.; MORINI, M.; ALBINI, A.; GARBISA, S. Neutrophil restraint by green tea: inhibition of inflammation, associated angiogenesis, and pulmonary fibrosis. *Journal of Immunology*, v.170, n.8, p.4335-4341, 2003.
- HOCHSTEIN, F.A. Alkaloids of *Rauwolfia sellowii*. *Journal of American Chemical Society*, v.77, n.21, p.5744-5745, 1955.
- HOFBAUER, R.; FRASS, M.; GMEINER, B.; HANDLER, S.; SPEISER, W.; KAPIOTIS, S. The green tea extract epigallocatechin gallate is able to reduce neutrophil transmigration through monolayers of endothelial cells. *Wiener Klinische Wochenschrift*, v.111, n.7, p.278-282, 1999.
- HOFBAUER, R.; FRASS, M.; GMEINER, B.; KAYE, A.D.; FROST, E.A. Garlic extract (*Allium sativum*) reduces migration of neutrophils through endothelial cell monolayers. *Middle East Journal of Anesthesiology*, v.15, n.6, p.649-658, 2000.
- HOFBAUER, R.; FRASS, M.; GMEINER, B.; KAYE, A.D.; FROST, E.A. Effects of garlic extract (*Allium sativum*) on neutrophil migration at the cellular level. *Heart Disease*, v.3, n.1, p.14-17, 2001.
- INHANTOLA-VORMISTO, A.; SUMMANEN, J.; KANKAANRANTA, H.; VUORELA, H.; ASMAWI, Z.M.; MOILANEN, E. Anti-inflammatory activity of extracts from leaves of *Phyllanthus emblica*. *Planta Medica*, v.63, n.6, p. 518-524, 1997.
- MATTOS, F.J.A. *Introdução a fitoquímica experimental*. Fortaleza: Editora da Universidade Federal de Fortaleza, 1988.
- MCNEILL, G.W.; BARRIE, F.R.; BURDET, H.M.; DEMOULIN, V.; T.S.F.; NICHOLSON, D.H.; SILVA, P.C.; SKOG, J.E.; THEHANE, P.; TURLAND, N.J.; HAWKSWORTH, D.L. *International Code of Botanical Nomenclature (Saint Louis Code)*. Königstein: Koeltz Scientific, 2000.
- MERCHANT, D.; KAHN, R.; MURPHY, W. *Handbook of cell and organ culture*. Broken Arrow: Burgess Publishing, 1964.
- MULLER, A.A.; REITER, S.A.; HEIDER, K.G.; WAGNER, H. Plan-derived acetophenones with antiasthmatic and antiinflammatory properties: inhibitory effects in chemotaxis, right angle scatter and actin polymerization of polymorphonuclear granulocytes. *Planta Medica*, v.65, n.7, p.590-594, 1999.
- PAKRASHI, S.C.; DJERASSI, C.; WASICKY, R.; NEUSS, N. Alkaloid studies. IX. *Rauwolfia* alkaloids. IV. Isolation of reserpine and other alkaloids from *Rauwolfia sellowii* Muell. Argov. *Journal of American Chemical Society*, v.77, n.24, p.6687-6689, 1955.
- ROBERTS, R.L.; NATH, J.; FRIEDMAN, M.M.; GALLIN, J.I. Effects of taxol on human neutrophils. *Journal of Immunology*, v.129, n.5, p.2134-2141, 1982.
- SHEN, Y.C.; CHOU, C.J.; CHIOU, W.F.; CHEN, C.F. Anti-inflammatory effects of the partially purified extract of radix *Stephaniae tetrandrae* comparative studies of its active principles tetrandrine and fangchinoline on human polymorphonuclear leukocyte functions. *Molecular Pharmacology*, v.60, n.5, p.1083-1090, 2001.
- SILVA, G.L.C.; GAERTNER, P.; MARSON, P.G.; SCHWARTZ, E.A.; SANTOS, C.A.M. An ethnopharmacobotanical survey in Salto Caxias Hydroelectric Station in Paraná State, Brazil, before flooding. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 2003 (in press).
- SONODA, Y.; KASAHARA, T.; MUKAIDA, N.; SHIMIZU, N.; TOMODA, M.; TAKEDA, T. Stimulation of interleukin-8 production by acidic polysaccharides from the root of *Panax ginseng*. *Immunopharmacology*, v.38, n.3, p.287-294, 1998.

***Autor para correspondência:**

Profa. Dra. Almeriane Maria Weffort-Santos.
Laboratório de Hematologia.
Departamento de Patologia Médica
Universidade Federal do Paraná
Av. Prefeito Lothário Meissner, 3400
80210-170 – Curitiba – PR
e-mail: almeriane@ufpr.br