

determined by the method of Coomassie Brilliant Blue R-protein binding reaction⁷ and total carbohydrate by method of phenol-sulfuric reagent⁸. The protein and polysaccharide peptide complex profile of fractions FI-1 and -2 was done by PAGE⁹. For *in vivo* assays, fractions diluted in saline solution (0.85% NaCl) were administered i.p. in two groups of 5 AJ male mice with 16.4±1.4 g average weight, in single-doses of 257 mg/kg (FI-1) and 31.5 mg/kg (FI-2). For a control group, 10 mice were injected with equal volume of saline solution. After 15 days from dose administration, the mice were sacrificed by decapitation and blood samples collected and serum proteins analyzed by PAGE (9).

References

- ¹Ooi VE, Liu F. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide-protein complexes. *Current Medicinal Chemistry* 2000; 7:715-29
- ²Singer R. The agaricales in modern taxonomy. 4th ed. FDR: Koeltz Scientific Books, 1986
- ³Zhang J, Wang G, Li H, Zhuang C, Mizuno T, Ito H, Suzuki C, Okamoto H, Li J. Antitumor polysaccharide from a chinese mushroom, Yuhuangno, the fruiting body of *Pleurotus citrinopileatus*. *Bioscience and Biotechnological Biochemistry* 1994. 58:1295-201
- ⁴Zhuang C, Mizuno T, Shimada A, Ito H, Suzuki C, Mayazumi Y, Okamoto H, Ma Y, Li J. Antitumor protein-containing polysaccharides from a chinese mushroom Fengweigu or Houbitake, *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. *Bioscience and Biotechnological Biochemistry* 1993. 57:901-6
- ⁵Maeda YY, Chihara G, Ishimura K. Unique increase of serum protein and action of antitumor polysaccharides. *Nature* 1974. 252:250-2
- ⁶Mizuno T, Ando M, Sugie R, Ito H, Shimura K, Sumiya T, Matsuura A. Antitumor activity of some polysaccharides isolated from an edible mushroom, Ningyotake, the fruiting body and the cultured mycelium of *Polyporus confluens*. *Bioscience and Biotechnological Biochemistry* 1992. 56:34-41
- ⁷Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of micrograms of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 1976. 72:248-54
- ⁸Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 1956. 28:350-6
- ⁹Laemmli UK. Cleavage of structural protein during assembly of head of bacteriophage T-4. *Nature* 1970

Efeito da quercetina sobre o extravasamento plasmático no sistema nervoso dura-mater de ratos

Luiz Arthur Rangel Cyrino; Luciane Pereira Nascimento Häckl; Gareth Cuttle; Mauro Nicolau*

Departamento de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900, Florianópolis, SC, Brasil
mnicolau@mbox1.ufsc.br

Resumo

Estudos recentes têm demonstrado que os bioflavonóides afetam vários sistemas enzimáticos nos mamíferos. A dura-máter é um tecido que recebe inervação peptidérgica. No cérebro, a inflamação neurogênica envolve a liberação da substância P (SP) por terminais nervosos sensoriais e é modulada pela endopeptidase neutra (NEP) e pela enzima conversora da angiotensina (ECA). Neste estudo, avaliamos o efeito da quercetina, que representa mais de 50% dos bioflavonóides, sobre o extravasamento plasmático induzido pela SP em tecidos selecionados no sistema nervoso central de ratos e dura-máter. Também examinamos o efeito da inibição seletiva das enzimas metabolizadoras da SP (NEP e ECA). A administração de SP (10 nmol/kg e 30 nmol/kg, i.v.) aumentou o extravasamento plasmático de maneira dose dependente na dura-máter, não apresentando nenhum efeito nos outros tecidos; este efeito foi potencializado por inibidores seletivos da NEP e da ECA. A quercetina (30 mg/kg v.o.) aumentou o extravasamento plasmático em relação ao controle em todos os tecidos. O pré-tratamento com quercetina potenciou significativamente o extravasamento plasmático induzido pela SP (10 nmol/kg) na dura-máter. Resultados obtidos com o pré-tratamento com antagonistas específicos para receptores da substância P e bradicinina (NK-1 e B2) sugerem que o aumento do extravasamento plasmático induzido pela quercetina e a potenciação da resposta à SP foram devidos ao acúmulo deste neuropeptídeo na dura-máter.

Estudos recentes têm demonstrados que os bioflavonóides, compostos polifenólicos encontrados em vários produtos alimentares e plantas, afetam vários sistemas biológicos nos mamíferos. Eles inibem a síntese e a liberação de enzimas, tem características imunossupressoras e podem funcionar como poderosos antioxidantes, sendo protetores cardiovasculares^{1,2}. Na dura-máter, um tecido que recebe inervação peptidérgica, a liberação da substância P (SP) destas terminações nervosas sensoriais tem papel importante na inflamação neurogênica³. Esta resposta inflamatória é modulada

pela endopeptidase neutra (NEP) e pela enzima conversora da angiotensina (ECA)⁴. Neste estudo, avaliamos o efeito da quercetina, que representa mais de 50% dos bioflavonóides, sobre o extravasamento plasmático induzido pela SP em tecidos selecionados no sistema nervoso central de ratos (cerebelo, bulbo olfatório e córtex) e dura-máter. Também examinamos o efeito da inibição seletiva das enzimas metabolizadoras da substância P (NEP e ECA) pelo fosforamidon e captopril, respectivamente.

A administração de SP (10 nmol/kg e 30 nmol/kg, i.v.) aumentou o extravasamento plasmático de maneira dose dependente na dura-máter, não apresentando nenhuma alteração nos outros tecidos (dados não mostrados).

Na Figura 1 o extravasamento plasmático induzido pela administração da SP (10 nmol/kg, i.v.) foi potencializado tanto pelo fosforamidon como pelo captopril.

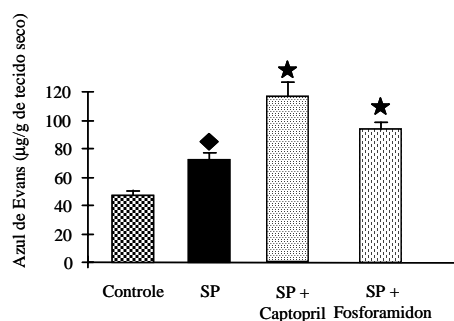


Figura 1. Efeito da substância P (SP; 10 nmol/kg, i.v.), e das associações da substância P com captopril e com fosforamidon, sobre o extravasamento plasmático na dura-máter. Valores médios \pm erro padrão; n=10 animais por grupo. (◆) indica a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação no controle. (★) indica a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do efeito das associações do captopril e SP e do fosforamidon e SP em relação à SP isolada.

Na Figura 2 o pré-tratamento com quercetina (30 mg/kg, v.o.) potenciou significativamente o extravasamento plasmático induzido pela substância P (10 nmol/kg) na dura-máter (72.2 ± 4.9 para 100.4 ± 8.8). O pré-tratamento com RP67580, um antagonista seletivo dos receptores NK1, que medeiam o extravasamento plasmático induzido pela SP, reduziu o efeito potencializador da quercetina verificada sobre a resposta da SP. Entretanto, o pré-tratamento com o Hoe 140, um antagonista seletivo dos receptores B2 das cininas, não modificou a potenciação provocada pela quercetina. Estes resultados permitem concluir que a inibição da NEP pela quercetina provoca o acúmulo da SP, o que está de acordo com resultados obtidos por outros pesquisadores, que mostraram um efeito inibitório de antagonistas do receptor NK1 sobre a extravasamento plasmático na dura-máter induzido pela SP^{5,6}, entretanto a bradicinina não provocou aumento do extravasamento plasmático na dura-máter⁷.

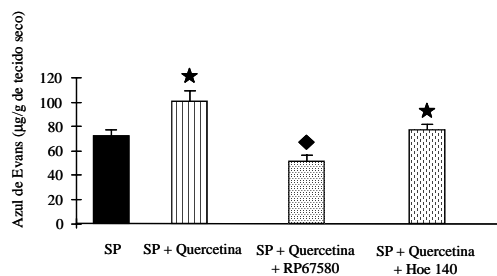


Figura 2. Efeito do pré-tratamento com quercetina (30 mg/kg, v.o.) antes e após a administração de RP 67580 ou Hoe 140, sobre o extravasamento plasmático induzido pela substância P (10 nmol/kg, i.v.) na dura-máter. Valores médios \pm erro padrão; n=10 animais por grupo. (★) indica a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação no controle. (◆) indica a diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) do efeito do antagonista RP67580 em relação a associação de substância P e quercetina.

Material e Métodos

Foram utilizados ratos Wistar machos anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) pesando entre 200-300 g. Foram usados 10 animais em cada grupo experimental. Todas as substâncias foram injetadas pela veia peniana. O extravasamento plasmático foi avaliado através do corante de azul de Evans (20 mg/kg; 25 mg/kg/ml em salina 0,9%). Os animais foram decapitados 15 min após a administração do azul de Evans, seguida da perfusão com 60 ml de salina por 3 min via ventrículo esquerdo. Os seguintes tecidos foram dissecados: dura-máter, cerebelo, bulbo olfatório e córtex. Foram colocados em formamida por 24 h e a concentração do corante foi quantificada por espectrofotometria (620 nm) e expresso em mg/g de tecido seco. Em todos os outros grupos os animais foram perfundidos 15 min após a injeção de azul de Evans conforme descrito acima. Em dois grupos os animais foram pré-tratados com antagonistas seletivos para NK1 e B2 (RP67580 e Hoe 140, respectivamente; 10 nmol/kg, i.v.) 5 min antes da administração de SP junto com o corante.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pela Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal ao Nível Superior (CAPES), Brasil.

Referências

- Middleton E Jr, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer. Em: Harbone JB, editor. *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Londres: Chapman e Hall, 1993: 619-52
- Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Sciences* 1997; 2: 152-9
- Ebersberger A, Averbeck B, Messlinger K, Reeh PW. Release of substance P, calcitonin gene-related peptide and prostaglandin E2 from rat dura mater encephali following

- electrical and chemical stimulation in vitro. *Neuroscience* 1999; 89: 901-7
- ⁴Piedimonte G. Tachykinin peptides, receptors and peptidases in airway disease. *Experimental Lung Research* 1995; 21: 809-34
- ⁵Moussaoui SM, Philippe L, Le Prado N, Garret C. Inhibition of neurogenic inflammation in the meninges by a non-peptide NK1 antagonist, RP67580. *European Journal of Pharmacology* 1993; 238: 421-4
- ⁶Shepherd SL, Williamson DJ, Hill RG, Hargreaves RJ. The non-peptide neurokinin 1 receptor antagonist RP67580 blocks neurogenic plasma extravasation in the dura mater of rats. *British Journal of Pharmacology* 1993; 108: 11-12
- ⁷Matsukado K, Sugita M, Black KL. Intracarotid low dose bradykinin infusion selectively increases tumor permeability through activation of bradykinin B2 receptors in malignant gliomas. *Brain Research* 1998; 792: 10-15

Estudo da atividade antidiarréica e anti-secretória intestinal do látex do *Croton urucurana* Baill.

Luilma Albuquerque Gurgel^{1*}; Domingos Tabajara de Oliveira Martins²; Paulo Orlandi Mattos²; Vietla Satyanarayana Rao¹

¹Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, C.P. 3157, 60430-270, Fortaleza, CE

²Departamento de Ciências Básicas da Saúde, FCM, Universidade Federal do Mato Grosso, 78060-900, Cuiabá, MT, Brasil
luilma@fortalnet.com.br

Resumo

O presente trabalho tem por objetivo avaliar uma possível atividade antidiarréica e anti-secretória intestinal do látex do *Croton urucurana* Baill. justificando seu uso como antidiarréico. Foram utilizados os modelos animais de diarreia induzida por óleo de rícino e secreção intestinal induzida pela toxina da cólera. Os resultados sugerem que o látex apresenta atividade antidiarréica, confirmando seu uso popular. Muito embora seu mecanismo de ação não seja claro, seu efeito é independente da participação de mecanismo opióide ou nitriérgico.

Na medicina popular, muitas plantas são usadas como antidiarréicas sem nenhuma base científica. O látex eliminado de algumas espécies de *Croton* da América do Sul, é utilizado na medicina popular no tratamento de câncer, reumatismo, feridas, úlceras, diarreia e no combate à infecções^{1,2}. A diarreia secretória causada por enterotoxinas ainda é uma das maiores causas de morbidade e mortalidade em muitos países tropicais^{4,5}. Estas toxinas parecem funcionar estimulando a secreção transepitelial de cloro, aumentando assim a secreção de fluido por seu efeito osmótico⁶. Para que uma droga seja considerada antidiarréica, esta deve reduzir a secreção (ou aumentar a absorção) de água e reduzir a motilidade intestinal. Os nomes populares do *Croton urucurana* são muitos, dentre eles encontramos sangra d'água, urucurana, sangue-de-drago, capixingui e tapexingui.

Em experimentos anteriores realizados em nosso laboratório o látex do *Croton urucurana* (LCU) inibiu o trânsito gastrointestinal em camundongos. O presente trabalho tem por objetivo avaliar uma possível atividade antidiarréica do LCU nos modelos de diarreia induzida por óleo de rícino (OR) e secreção intestinal induzida por toxina da cólera (TC).

No modelo de diarreia em ratos, o LCU (600 e 800 mg/kg) retardou o aparecimento da diarreia com uma significativa ($p < 0,01$) inibição durante as duas primeiras horas (Tabela 1). Nem naloxona, nem L-arginina foram capazes de alterar o efeito antidiarréico do LCU (800 mg/kg) (Tabela 2). No modelo de