



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PAULO ALEXANDRE NUNES NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HISTAMÍNICA DO EXTRATO SECO
DA CASCA DE *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**

Recife
2012

PAULO ALEXANDRE NUNES NETO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-HISTAMÍNICA DO EXTRATO SECO
DA CASCA DE *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Obtenção e Avaliação de Produtos Naturais e Bioativos

Orientador: Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

Coorientadores: Prof. Dr. João Henrique da Costa-Silva;

Dr^a. Alice Valença Araújo

Recife

2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Gláucia Cândida da Silva, CRB4-1662

N972a Nunes Neto, Paulo Alexandre.
 Avaliação da atividade anti-histamínica do extrato seco da casca de
 Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae) / Paulo Alexandre Nunes
 Neto. – Recife: O autor, 2012.
 73 folhas : il. ; 30 cm.

 Orientador: Almir Gonçalves Wanderley.
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco,
 CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.
 Inclui bibliografia.

 1. Anacardiaceae. 2. Anti-histaminas. I. Wanderley, Almir Gonçalves
 (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2012-198)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



Recife, 31 de agosto de 2012.

Defesa de Dissertação de Mestrado de **Paulo Alexandre Nunes Neto** defendido e **APROVADO**, por decisão unânime, em 31 de agosto de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

(Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Prof^a. Dr^a. Ivone Antônia de Souza

(Depto. de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

(Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: _____

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Reitor

Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

Vice-Reitor

Sílvio Romero de Barros Marques

Pró-Reitor para Assuntos de Pesquisa e Pós-Graduação

Francisco de Sousa Ramos

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Nicodemos Teles de Pontes Filho

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Vânia Pinheiro Ramos

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Dalci José Brondani

Vice-Chefe do Departamento de Ciências Farmacêuticas

Antônio Rodolfo de Faria

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Nereide Stela Santos Maçalhães

**Vice-Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas**

Ana Cristina Lima Leite

Dedico este trabalho a minha família em especial aos meus pais, Graça e Zeca, por todo esforço em me proporcionar uma vida digna na qual pudesse crescer acreditando que sou capaz de concretizar os meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me guiar e assim conseguir conquistar mais uma vitória em minha vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley, pela oportunidade concedida e confiança em mim depositada. Seu incentivo e ensinamentos foram essenciais para meu crescimento acadêmico e por isso expresso minha sincera gratidão, respeito e admiração.

Ao Prof. Dr. João Henrique da Costa Silva, por sua orientação, amizade, paciência e caráter solícito. Seus ensinamentos e conselhos foram indispensáveis à realização deste trabalho.

A Prof^a. Dr^a. Simone Sette Lopes Lafayette, pelo exemplo de superação, dedicação e amor à profissão.

A todos que fazem o Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Pré-Clínica de Produtos Bioativos da UFPE, pela convivência salutar, colaboração e estímulo à pesquisa e desenvolvimento científico. Em especial a doutoranda, Germana Freire Rocha Caldas e a minha coorientadora, Dr^a. Alice Valença Araújo, pelo apoio, dedicação e conhecimento compartilhado.

A Rejane Silva, Nielson Melo e Fredson Soares (*Seu Fredson*), pela assistência técnica e auxílio geral. Obrigado pela colaboração, simpatia e boa vontade.

Aos meus pais, por sempre acreditarem em mim e nunca medirem esforços para investir em minha educação. As minhas irmãs, Nanda e Mylla, e a minha sobrinha, Maria Eloísa, pelo carinho e incentivo incondicional.

Aos amigos da turma de pós-graduação, Aline, Hilton, Janú, Monize, Sarah e Tony, pelos momentos divertidos e de descontração, e também pelo sofrimento conjunto durante a realização das disciplinas e desenvolvimento dos projetos.

Aos amigos e companheiros de todas as horas, porque de nada adianta trilharmos caminhos, vencermos desafios, se não pudermos dividir o gosto da vitória com todos aqueles que estiveram presentes em nossa caminhada.

A todos os professores que fazem parte do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE.

A Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de estudo.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação tanto profissional como pessoal.

RESUMO

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), popularmente conhecida como "Aroeira", é encontrada em todo o litoral brasileiro e tem sido usada na medicina tradicional, principalmente no tratamento de alterações de origens inflamatória, gástrica e respiratória. Esse estudo avaliou a possível atividade anti-histamínica do extrato hidroalcoólico da casca do caule de *Schinus terebinthifolius* (St). Nesse sentido, ensaios *in vitro* de curvas concentração-efeito (CCE) simples ou cumulativas foram obtidas para histamina, carbacol ou KCl na ausência ou presença de St no íleo isolado de cobaia (*Cavia porcellus*). Em outro protocolo, ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) foram usados para indução do edema de pata por histamina. Os resultados mostram que o extrato de St (250, 500 e 1000 µg/mL) reduziu estatisticamente a curva de contração simples para histamina em $9,1 \pm 1,8$; $50,2 \pm 2,0$ e $68,9 \pm 2,0\%$, respectivamente. Contudo, não houve inibição das respostas contráteis produzidas por carbacol e KCl. O anti-histamínico H₁, hidroxizina (0,125 e 0,250 µM), inibiu significativamente as respostas da histamina ($25,9 \pm 3,1$ e $51,2 \pm 3,0\%$, respectivamente), mas não interferiu com as contrações por carbacol e KCl. A associação de St com hidroxizina (250 + 0,125 e 500 µg/mL + 0,250 µM) causou uma potenciação significativa do efeito inibitório para $67,0 \pm 3,2$ e $85,1 \pm 2,1\%$, respectivamente. Nas CCE cumulativa para histamina, o extrato de St (250 µg/mL) produziu significativo deslocamento à direita, característico de antagonismo do tipo competitivo, enquanto que em concentrações maiores (500 e 1000 µg/mL) induziu, além do desvio a direita, redução do efeito máximo para $65,7 \pm 1,9$ e $49,4 \pm 2,5\%$, respectivamente. No edema de pata por histamina, o extrato de St (100, 200 e 400 mg/kg) produziu inibição significativa de 33,9; 48,4 e 54,8%, respectivamente, no pico do edema (1h), enquanto que a hidroxizina (70 mg/kg) inibiu 56,5%. O conjunto dos resultados sugere possível ação anti-histamínica (H₁) do extrato da casca de *Schinus terebinthifolius* evidenciada pelo antagonismo das respostas contráteis induzidas por histamina em íleo de cobaia e pela inibição do edema de pata.

Palavras-chave: *Schinus terebinthifolius*. Anacardiaceae. anti-histamínico. íleo de cobaia. edema de pata.

ABSTRACT

Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae), popularly known as "Aroeira", is found throughout the Brazilian coast and has been used in traditional medicine, especially in the treatment of disorders of inflammatory origin, gastric and respiratory. This study evaluated the possible antihistaminic activity of hydroalcoholic extract of the stem bark of *Schinus terebinthifolius* (St). For this purpose *in vitro* assays were intended to investigate the effect of the extract on the contractions induced in isolated guinea pig (*Cavia porcellus*) ileum by histamine, carbachol and potassium chloride. To evaluate the *in vivo* antihistaminic activity, the extract of St was studied against hind paw edema induced by histamine in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). The results show that the extract of St (250, 500 and 1000 $\mu\text{g/mL}$) reduced statistically the histamine-induced contraction by 9.1 ± 1.8 , 50.2 ± 2.0 and $68.9 \pm 2.0\%$, respectively. However, there was no inhibition of the contractile responses induced by carbachol and KCl. Hydroxyzine (0.125 and 0.250 μM), H_1 -antihistamine, inhibited the responses of histamine (25.9 ± 3.1 and $51.2 \pm 3.0\%$, respectively), but did not interfere with the contractions induced by carbachol and KCl. The association of *Schinus terebinthifolius* with hydroxyzine (250 + 0.125 e 500 $\mu\text{g/mL}$ + 0.250 μM) caused a significant potentiation of the inhibitory effect to 67.0 ± 3.2 and $85.1 \pm 2.1\%$, respectively. The extract also induced a shift to the right of the concentration-effect curves to histamine and, at the concentrations of 500 and 1000 $\mu\text{g/mL}$, reduced the maximal effect to 65.7 ± 1.9 and $49.4 \pm 2.5\%$, respectively. In addition, the extract (100, 200 e 400 mg/kg) produced a decrease of paw edema in the 1st hour after its induction (edema peak) to 33.9, 48.4 e 54.8%, respectively, whereas hydroxyzine (70mg/kg) inhibited 56.5% of this response. The data from this study suggests that the bark extract of *Schinus terebinthifolius* has antihistaminic effect (H_1), evidenced by antagonism of contractile responses induced by histamine in guinea pig ileum and inhibition of paw edema in rats.

Keywords: *Schinus terebinthifolius*. Anacardiaceae. antihistamine. Guinea pig ileum. paw edema.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 – <i>Schinus terebinthifolius</i> e detalhes de seu tronco, folhas e frutos.....	19
Figura 2 – Metabolismo da histamina.....	25
Figura 3 – Sensibilização, ativação e degranulação do mastócito.....	28

ARTIGO: Antihistaminic activity of *Schinus terebinthifolius* bark extract

Figure 1 – Effect of <i>Schinus terebinthifolius</i> bark extract on the contractions induced by 1 μ M histamine, 1 μ M carbachol and 40 mM KCl in isolated guinea pig ileum.....	51
Figure 2 – Effect of <i>Schinus terebinthifolius</i> bark extract, hydroxyzine and <i>Schinus terebinthifolius</i> + hydroxyzine on the contractions induced by 1 μ M histamine in isolated guinea pig ileum.....	53
Figure 3 – Effect of hydroxyzine on the contractions induced by 1 μ M carbachol and 40 mM KCl in isolated guinea pig ileum.....	54
Figure 4 – Effect of verapamil on the contractions induced by 1 μ M histamine, 1 μ M carbachol and 40 mM KCl in isolated guinea pig ileum.....	55
Figure 5 – Cumulative concentration-effect curve to histamine in the absence and presence of <i>Schinus terebinthifolius</i> bark extract: 250, 500 and 1000 μ g/mL; hydroxyzine: 0.125 and 0.250 μ M; and <i>Schinus terebinthifolius</i> + hydroxyzine: 250 + 0.125 and 500 μ g/mL + 0.250 μ M.....	56

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1 – Os receptores de histamina, locais de expressão, proteínas G acopladas e sinais intracelulares ativados.....	26
--	----

Tabela 2 – Classificação dos anti-histamínicos H ₁	30
--	----

ARTIGO: Antihistaminic activity of *Schinus terebinthifolius* bark extract

Table 1 – E _{max} and pEC ₅₀ values of concentration-effect curves to histamine in the absence and presence of <i>Schinus terebinthifolius</i> bark extract, hydroxyzine and their associations.....	58
---	----

Table 2 – Effect of the oral administration of <i>Schinus terebinthifolius</i> bark extract on paw edema induced by histamine in rats.....	59
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPC	adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
$[Ca^{2+}]_i$	concentração de Ca^{2+} intracelular
Ca^{2+}	íon cálcio
DAG	diacilglicerol
DAO	diamino oxidase
DL ₅₀	dose letal mediana
EC ₅₀	concentração molar de um agonista que produz 50% do efeito máximo.
E _{max}	efeito máximo
HDC	histidina descarboxilase
HMT	histamina N-metiltransferase
HXZ	hidroxizina
IC ₅₀	concentração de um antagonista que reduz a resposta de um agonista em 50%
IgE	imunoglobulina E
IP ₃	inositol 1,4,5-trifosfato
KCl	cloreto de potássio
NF-κB	fator de transcrição nuclear κB
OMS	Organização Mundial de Saúde
pEC ₅₀	logaritmo negativo na base 10 da EC ₅₀
PIP ₂	fosfatidilinositol
PKC	proteína quinase C
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
SNC	sistema nervoso central
St	<i>Schinus terebinthifolius</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
VER	verapamil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 A importância das plantas medicinais e fitoterápicos.....	17
2.2 <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	18
2.3 Histamina: metabolismo e funções no organismo.....	23
2.4 O processo alérgico e o papel da histamina.....	27
2.5 Anti-histamínicos H ₁	28
2.6 O íleo de cobaia como modelo experimental.....	31
3 OBJETIVOS	33
3.1 Geral.....	34
3.2 Específicos.....	34
4 ARTIGO.....	35
ABSTRACT.....	36
INTRODUCTION.....	37
MATERIAL AND METHODS.....	38
RESULTS.....	43
DISCUSSION.....	45
ACKNOWLEDGEMENTS.....	47
REFERENCES.....	47
5 CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS.....	62

1. Introdução

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre plantas medicinais e suas propriedades terapêuticas foi acumulado durante séculos e sua utilização ainda simboliza o único recurso de algumas comunidades e grupos étnicos (DI STASI, 1996). Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e cultivadas em quintais de residências (MACIEL et al., 2002). As formas de sua utilização podem variar desde o uso de chás, vinhos medicinais e preparados com plantas frescas para inalação ou emplastos, até o uso de medicamentos fitoterápicos em gotas, xaropes, cápsulas, pomadas e outros tipos de formas farmacêuticas (NOGUEIRA et al., 1996).

Os fitoterápicos são terapeuticamente tão eficazes quanto os medicamentos produzidos por síntese química. Contudo, a transformação de uma planta em um medicamento deve visar à preservação da integridade química e farmacológica do vegetal, garantindo a constância de sua eficácia e segurança de uso, além de valorizar seu potencial terapêutico. Para atingir esse objetivo, a produção de um fitoterápico requer, necessariamente, estudos prévios relativos aos aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos, toxicológicos, de desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas (TOLEDO et al., 2003).

Dentre as formas de medicina alternativa, a fitoterapia vem crescendo notadamente nos últimos anos. No ano de 2009, o Ministério da Saúde divulgou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS). Nesta relação constam as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde (SUS). A RENISUS tem como principal objetivo orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da lista de plantas medicinais e fitoterápicos a serem disponibilizados para uso da população, com segurança e eficácia, como também o desenvolvimento e inovação nessa área (PORTAL DA SAÚDE).

Na elaboração da RENISUS, foram priorizadas plantas medicinais indicadas para uso na atenção básica. Dentre essas espécies, constam a *Cynara scolymus*

(alcachofra), *Schinus terebinthifolius* (aroeira) e *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato), usadas pela sabedoria popular e confirmadas cientificamente, para distúrbios digestivos, inflamação vaginal e dores articulares, respectivamente (PORTAL DA SAÚDE). Nesse contexto, a descoberta de plantas medicinais e fitoterápicos com atividade anti-histamínica torna-se interessante uma vez que as manifestações alérgicas como rinite, conjuntivite, urticária e outras reações de hipersensibilidade vem aumentando nos últimos anos, proporcionando um gasto elevado ao sistema público de saúde, além do afastamento dos doentes de suas atividades habituais (DEVEREUX, 2006; SINGH et al., 2007).

Algumas plantas têm sido utilizadas na medicina popular para o tratamento da alergia, entretanto, existe a necessidade da realização de estudos farmacológicos para validar seus efeitos terapêuticos (TAUR; PATIL, 2011). Embora a fração acetato das folhas de *Schinus terebinthifolius* tenha demonstrado propriedades antialérgicas em modelos animais (CAVALHER-MACHADO et al., 2008), não há dados publicados sobre a atividade anti-histamínica da casca do caule dessa espécie.

2. Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DAS PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) define planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas para fins terapêuticos ou que sejam precursoras de fármacos semissintéticos (VEIGA JR. et al., 2005). O fitoterápico é um medicamento obtido empregando-se exclusivamente estas matérias-primas vegetais, sendo caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Sua eficácia e segurança é validada através de levantamentos etnofarmacológicos de utilização, documentações tecnocientíficas em publicações ou ensaios clínicos fase 3. Não se considera medicamento fitoterápico aquele que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2004).

Segundo dados da OMS, na década de 90, devido à pobreza e pouco acesso a medicina moderna, cerca de 65 a 80% da população mundial dependiam essencialmente da utilização de plantas como única forma de acesso aos cuidados de saúde (CALIXTO, 2005). Neste contexto, as plantas medicinais e fitoterápicos assumiam importância como agentes terapêuticos, no entanto, ainda não se tinham controle sobre sua segurança, qualidade e eficácia.

O uso indiscriminado de diversas plantas medicinais e fitoterápicos baseado em conhecimentos populares, aliado à crença de que por serem naturais não causavam reações adversas, despertou a preocupação por parte das autoridades reguladoras com a normatização destes agentes terapêuticos (TURTOLLA; NASCIMENTO, 2006). Assim, no Brasil, ao longo dos anos várias, políticas envolvendo plantas medicinais e fitoterápicos foram implantadas destacando-se, mais recentemente, o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovado em 9 de dezembro de 2008, que tem como um dos objetivos garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos; e a portaria nº 971 de 03 de maio de 2006, que insere as práticas

integrativas e complementares, incluindo as plantas medicinais e fitoterapia, como opções terapêuticas no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006, 2009).

As plantas medicinais são uma rica fonte para obtenção de moléculas a serem exploradas terapeuticamente. O interesse da pesquisa nesta área tem aumentado nos últimos anos e as grandes companhias farmacêuticas mundiais mantêm programas nesta linha, sendo prioridade em muitas delas. Dentre os fatores que têm contribuído para um aumento nas pesquisas está a comprovação da eficácia de substâncias originadas de espécies vegetais e por muitas plantas medicinais serem matéria-prima para a síntese de fármacos (MACIEL et al., 2002; MICHELLIN et al., 2005; FENNER et al., 2006; BRAZ FILHO, 2007).

A aplicação de plantas medicinais é vasta, abrangendo grande importância desde o combate ao câncer até o tratamento de um sintoma como inflamação (CALIXTO, 2000; SILVA; CARVALHO, 2004). Além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos, para a obtenção de vários fármacos, até hoje amplamente utilizados na clínica, como a artemisina, atropina, vincristina, hesperidina, colchicina e rutina (SIMÕES et al., 2003).

Agra, Freitas e Barbosa-Filho (2007) registraram o uso de 483 plantas com potentes propriedades bioativas no Nordeste brasileiro, sendo muitas dessas espécies não estudadas quanto aos seus constituintes químicos e/ou atividades biológicas, embora os seus usos populares tenham sido relatados. Deste modo pode ser observado que ainda existe uma grande lacuna entre uso popular e atividades biológicas descritas, assim como uma carência de estudos de validação da eficácia e segurança desses agentes medicinais.

2.2 *Schinus terebinthifolius* Raddi

A espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi é um membro da família Anacardiaceae, nativa da América do Sul e pode ser encontrada em todo litoral brasileiro desde Pernambuco até o Rio Grande do Sul, em diversas formações vegetais (DEGÁSPARI, 2004). Apresenta várias sinônimas botânicas: *S. acutifolia* Engl., *S. glazioviana* Engl., *S. pohliana* Engl., *S. raddiana* Engl., *S. aroeira* Vell., *S.*

mucronulatus M. (CORRÊA, 1978), *S. mucronulata* Mart. e *S. antiarthriticus* Mart. (FERRITER, 1997). No Brasil esta espécie é conhecida popularmente como aroeira, aroeira vermelha, aroeira mansa, aroeira da praia, pimenta-do-reino do Brasil, cabuí e fruto de sabiá; “rose pepper”, “Brazilian-pepper tree” nos Estados Unidos; “pfeffer” e “rosa beeren” na Alemanha; “baies roses de Bourbon” na França e “aguará-mi-ybá” no Paraguai (PIERIBATTEST et al., 1981; CARVALHO, 1994; PIRES et al., 2004).

A aroeira é uma planta perenifólia, comum em beiras de rios, córregos e várzeas úmidas de formações secundárias; contudo, também crescem em dunas, em terrenos secos, pobres e pedregosos. Habita várias formações vegetais, sobrevivendo até seis meses sob deficiência hídrica moderada no solo (LENZI; ORTH, 2004). Sua altura varia entre 5 e 10 metros, possui copa arredondada e seu tronco é tortuoso, de 30 a 60 cm de diâmetro, com casca grossa e fissurada. Apresentam folhas compostas imparipenadas, folíolos subcoriáceos, galbros, em número de 3 a 10 pares, de 1 a 5 cm de largura. As suas flores são melíferas, florescendo principalmente durante os meses de setembro a janeiro e frutifica predominantemente no período de janeiro a julho. Suas sementes são amplamente disseminadas por pássaros, o que explica sua boa regeneração natural (LORENZI, 2002). A Figura 1 mostra imagens de *S. terebinthifolius*.

Figura 1 – *Schinus terebinthifolius* (a) e detalhes de seu tronco (b), folhas e frutos (c).



Fonte: SCIPIONI, 2011.

O emprego de diferentes partes da aroeira tem sido relatado na medicina tradicional de vários países. Todavia, o fato de existir uma grande variedade de espécies conhecidas pelo nome de aroeira tem confundido um pouco sua utilização, sendo quase sempre usadas com as mesmas finalidades (SILVA, 1999). Nas Américas Central e do Sul, a espécie *S. terebinthifolius* é utilizada como adstringente, cicatrizante, anti-inflamatório, antibacteriano, balsâmico, diurético e tônico, assim como no tratamento de febres, tumores e doenças do trato gastrointestinal, das vias respiratórias e urinárias (CORRÊA, 1978; CLEMENTE, 2006). A aroeira é consagrada e aceita pela população brasileira por sua ação cicatrizante e anti-inflamatória, em especial na região nordeste (BÓRIO, 1973).

Em relação à avaliação farmacológica, verificou-se que o extrato aquoso obtido das folhas de *S. terebinthifolius* apresentou atividade anti-inflamatória do tipo não-esteróide no modelo de granuloma induzido por algodão em dorso de rato (MOURELLE et al., 1993). Em pesquisa desenvolvida por Jain e colaboradores (1995) foi verificado que os triterpenos, ácido masticadienólico e o ácido masticadienólico (schinol), presentes nos frutos da aroeira, apresentam atividade antiinflamatória por serem inibidores competitivos específicos da enzima fosfolipase A₂ presente em pâncreas de porco, fluido sinovial humano e em veneno de abelha. Esses componentes isolados apresentaram mais de 80% de inibição da atividade catalítica.

A emulsão preparada a partir do extrato hidroalcoólico obtido da casca da espécie demonstrou significativa atividade cicatrizante e antiinflamatória, frente os modelos de ferida aberta em dorso de rato (dose de 1,5 g/kg) e o teste de edema de pata induzido por carragenina (dose de 2,5 g/kg), respectivamente (SILVA, 1999). Este mesmo extrato, aplicado em dose única intraperitoneal de 100 mg/kg mostrou efeito positivo no processo de cicatrização de anastomoses de cólon em ratos, evidenciado através de análise macroscópica e histológica (COUTINHO et al., 2006) e na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexigas de ratos Wistar, diminuindo a fase aguda do processo inflamatório e, conseqüentemente, acelerando os eventos típicos de fase regenerativa (LUCENA et al., 2006).

O extrato aquoso da casca de *S. terebinthifolius* apresentou um marcante efeito protetor da mucosa gástrica contra as ulcerações induzidas por estresse de imobilização em baixa temperatura em ratos. Nesse estudo também foi observado a elevação do pH e do volume do conteúdo gástrico, redução das hemorragias gástricas e do trânsito intestinal em camundongos (CARLINI et al., 2010).

O pré-tratamento oral com a fração acetato de etila das folhas de *S. terebinthifolius* (100 mg/kg) e seus compostos isolados (metil galato e 1,2,3,4,6-pentagaloilglicose) inibiram o edema de pata induzido pelo composto 48/80 e, em menor extensão, o edema de pata induzido por ovoalbumina. Nas doses de 100 e 200 mg/kg, a fração também inibiu o edema induzido pela histamina. Em modelo de pleurisia, o pré-tratamento oral com a fração inibiu o acúmulo total de leucócitos e eosinófilos nas cavidades pleurais 24 horas após a injeção intratorácica de ovoalbumina em camundongos (CAVALHER-MACHADO et al., 2008).

O extrato hidroalcoólico obtido das folhas da aroeira (12,6 e 63 mg/mL) apresentou significativa atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) e Gram negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) em método de difusão em ágar, além de mostrar ação antifúngica contra *Candida albicans* (MARTINEZ et al., 1996, 2000) e também contra *Candida glabrata* e *Sporothrix schenckii* com o extrato etanólico das folhas (7,8 a 1000 µg/mL), em teste de microdiluição em caldo (JOHANN et al., 2007). Ação semelhante contra *Candida albicans* foi obtida em experimentos de Schmourlo e colaboradores (2005), utilizando o extrato aquoso obtido a partir das partes aéreas do vegetal (folhas, talos e flores). O extrato etanólico da entrecasca da espécie demonstrou excelente atividade antibacteriana, particularmente frente a cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* resistentes à fluoroquinolonas e macrolídeos, em método de difusão em ágar, demonstrando valores de concentração inibitória mínima menores ou iguais a 100 mg/mL (LIMA et al., 2006).

Amorim e Santos (2003) em trabalho clínico randomizado, duplo-cego e controlado com 48 mulheres, constataram que o gel vaginal produzido com o extrato da casca da aroeira demonstrou-se seguro e eficaz no tratamento de vaginose bacteriana, promovendo 84% de cura nas pacientes tratadas.

A atividade antioxidante do extrato metanólico das partes aéreas da aroeira foi bem descrita, removendo radicais livres superóxido e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, protegendo contra a peroxidação lipídica enzimática e não enzimática, em membranas microssomais de ratos (VELÁZQUEZ et al., 2003).

Em relação à avaliação toxicológica, Pires e colaboradores (2004) realizaram uma análise preliminar de toxicidade aguda e dose letal mediana (DL_{50}) dos frutos da aroeira em camundongos, sendo determinada uma DL_{50} acima de 5000 mg/kg na administração por via oral. Já pela via intraperitoneal o valor obtido foi de 3500 mg/kg. Em estudo realizado por Araújo (2002) avaliando a toxicidade aguda do extrato metanólico da casca da aroeira em ratos, não foi evidenciado qualquer sinal de toxicidade ou morte relacionada ao tratamento. Em nosso laboratório, resultado semelhante foi obtido em estudos envolvendo a administração oral aguda e subcrônica do extrato hidroalcoólico da casca de *S. terebinthifolius* em ratos Wistar (LIMA et al., 2009).

S. terebinthifolius tem sido bem caracterizada do ponto de vista fitoquímico. Campelo e Marsaioli (1974) isolaram os compostos bauerenona, α -amirina, α -amirenona e ácido terebintefólico da casca do caule dessa espécie. No ano seguinte, investigando as folhas os mesmos autores isolaram alguns triterpenos como o ácido 3- α -hidroximasticadienólico, β -sitosterol e simiarenol (CAMPELO e MARSAIOLI, 1975). O estudo fitoquímico da fração acetato de etila oriunda do extrato etanólico das folhas conduziu ao isolamento de cinco compostos fenólicos: galato de etila, miricetrina, miricetina, quercitrina e galato de metila; supostamente responsáveis pela potente atividade antioxidante desta espécie (CERUKS et al., 2007). Também foi relatado a ocorrência de 1,2,3,4,6-pentagaloilglicose nas folhas (HAYASHI et al. 1989) e recentemente confirmado em estudo de Cavalher-Machado e colaboradores (2008).

Nos frutos da aroeira foram isolados os seguintes triterpenos: ácido masticadienólico, ácido hidroximasticadienólico e ácido ursólico (LLOYD et al., 1977). Seis anos depois, Stahl, Keller e Blinn (1983) isolaram deste mesmo órgão, o cardanol, substância irritante cutânea.

O óleo essencial das folhas e dos frutos de *S. terebinthifolius* tem sido alvo de muitos estudos fitoquímicos (LLOYD et al., 1977; LAWRENCE 1984; SANTOS et al., 1986; JAMAL; AGUSTA, 2001). De coloração amarela e límpido, o óleo essencial das folhas revelou conter os seguintes componentes: α -pineno, β -pineno, sabineno, δ -elemeno, α -felandreno, biciclogermacreno, germacreno-D, mirceno, linalol, limoneno, β -felandreno, *p*-cimeno, β -ocimeno, α -terpineol, terpinoleno, cis-sabinol, carvotanacetona, β -cariofileno, α e β -cubeneno, simiarenol, simiarenona, α -amirina e α -amirenona. No óleo essencial dos frutos da aroeira foram identificados os seguintes compostos: α -pineno, β -pineno, δ -3-careno, *p*-cimeno, α -felandreno, β -felandreno, biciclogermacreno, germacreno-D, α -terpineno, limoneno, α -terpinoleno, anetol, timol, sabineno, carvacrol e β -cariofileno. Clemente (2006) determinou o teor e o conteúdo do óleo essencial das folhas, ramos com inflorescências, frutos verdes e frutos maduros, assim como a influência da variação sazonal sobre suas composições.

A análise do extrato metanólico da casca do caule de *S. terebinthifolius* revelou uma predominância de compostos polifenólicos e terpenóides. Dentre os polifenóis, confirma-se a existência de grande concentração de taninos catéquicos, sendo atribuída a estes, boa parte da bioatividade dessa planta (QUEIRES; RODRIGUES, 1998; ARAÚJO, 2002). Em análise fitoquímica mais recente, realizada por Lima e colaboradores (2006) no extrato etanólico obtido da entrecasca da espécie, foi identificada a presença de polifenóis, triterpenos pentacíclicos e antraquinonas. Na extração com hexano utilizando a mesma parte da planta, os testes foram positivos para a presença de flavonas, flavonóides, xantonas e esteróides livres.

2.3 HISTAMINA: METABOLISMO E FUNÇÕES NO ORGANISMO

A histamina é um mediador químico estruturalmente simples e naturalmente sintetizado em nosso organismo a partir do aminoácido histidina pela L-histidina descarboxilase (HDC), uma enzima expressa em diferentes tipos de células (ADKINSON JR. et al., 2009). Sua síntese ocorre no aparelho de Golgi e, em seguida, é transportada para o interior de grânulos citoplasmáticos, onde é

armazenada em associação com resíduos de glicosaminoglicanos, heparina e proteases (MARIEB; HOEHN, 2007).

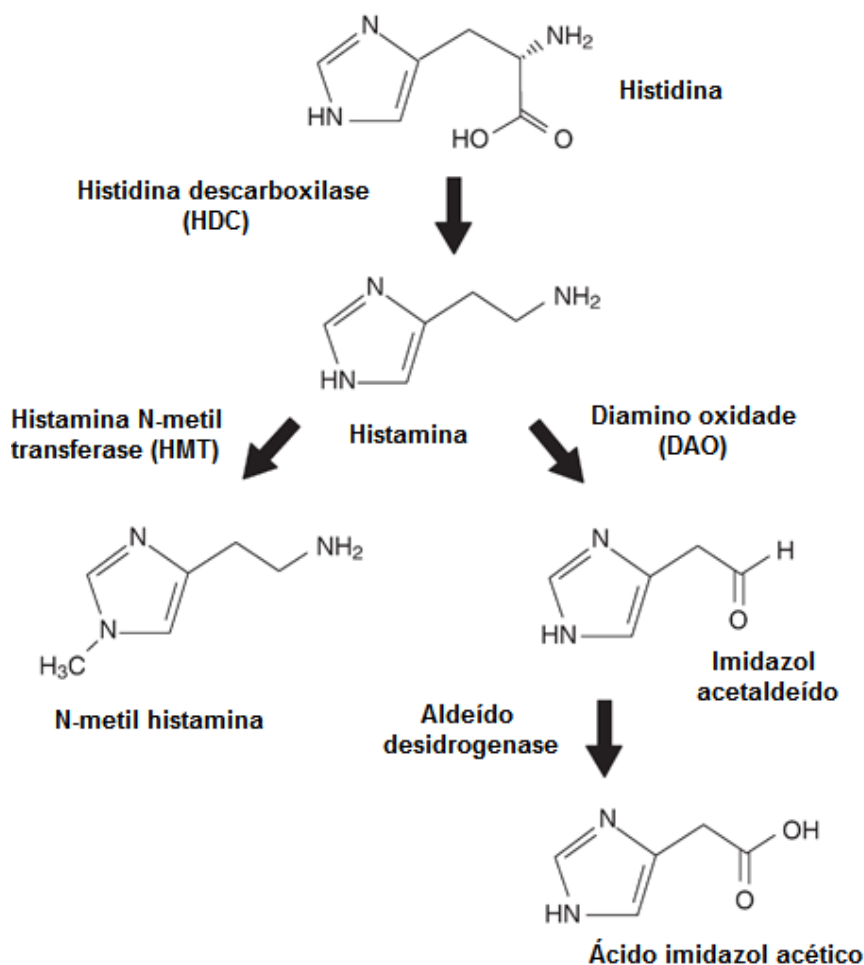
Este mediador distribui-se amplamente nos tecidos e sua concentração varia de acordo com a espécie animal. Os mastócitos e basófilos correspondem em até 90% das reservas de histamina nos mamíferos, constituindo os principais locais de armazenamento nos tecidos e no sangue, respectivamente. Outros locais de formação e armazenamento da histamina incluem células da epiderme, células parietais da mucosa gástrica, neurônios no sistema nervoso central e células de tecidos em fase de regeneração ou de rápido crescimento (BARRETT et al., 2010).

No SNC, a síntese de histamina acontece no núcleo tuberomamilar localizado no hipotálamo posterior (HAAS; PANULA, 2003). No interior dos mastócitos e basófilos, essa amina é produzida lentamente e armazenada em vesículas secretoras, possuindo baixa taxa de renovação. No entanto, em outros locais, ela é produzida e liberada de forma contínua, sendo pouco estocada (SPINOSA et al., 2006).

As vias de inativação da histamina em mamíferos são metilação do anel imidazol, catalisada pela enzima histamina-N-metiltransferase (HMT), e desaminação oxidativa do grupo amina primário, catalisada pela enzima diaminooxidase (DAO) originando imidazol acetaldeído que é posteriormente convertido para ácido imidazol acético pela enzima aldeído desidrogenase (MEDINA et al., 2005). A figura 2 esquematiza o metabolismo da histamina.

A histamina tem um papel importante na fisiologia do ser humano, bem como em diversas doenças. Está envolvida no controle da secreção de ácido gástrico, na proliferação e diferenciação celular, hematopoiese, desenvolvimento embrionário, regeneração e cicatrização de feridas (DY; SCHNEIDER, 2004; PARSONS; GANELLIN, 2006). No SNC, a histamina está envolvida na memória e cognição, regulação do ciclo de sono e vigília, termoregulação e homeostase endócrina (HAAS; PANULA, 2003; SIMONS; SIMONS, 2011).

Figura 2 – Metabolismo da histamina.



Fonte: ICHIKAWA; TANAKA, 2012.

A secreção de histamina a partir de mastócitos e basófilos desencadeia sintomas agudos, devido à sua rápida ação sobre o endotélio vascular, epitélio brônquico, epiderme e células musculares lisas. Isto resulta no desenvolvimento de sintomas tais como rinorréia, broncoespasmo, cólicas, prurido e urticária. Além disso, seu papel na resposta alérgica precoce afeta significativamente as respostas inflamatórias crônicas, podendo influenciar as funções dos macrófagos, células dendríticas, linfócitos T e B, incluindo a proliferação de células epiteliais e endoteliais, produção de citocinas e a expressão de moléculas de adesão celular e de MHC classe II (SCHNEIDER et al., 2002; MACGLASHAN JR., 2003).

A histamina exerce suas ações por meio de sua ligação a receptores acoplados a proteína G com mecanismos de transdução de sinais através de segundos mensageiros. Até o momento foram descritos quatro subtipos de

receptores para histamina: H_1 , H_2 , H_3 e H_4 (PARSONS; GANELLIN, 2006). A Tabela 1 resume as particularidades desses receptores. Os estados ativos e inativos dos receptores de histamina existem em equilíbrio, porém em muitos tecidos tem sido mostrado que esses receptores podem apresentar atividade constitutiva (CRIADO et al., 2010).

Tabela 1 – Os receptores de histamina, locais de expressão, proteínas G acopladas e sinais intracelulares ativados.

Receptor	Células e tecidos de expressão	Sinais intracelulares	Proteína G
H_1	Células nervosas, das vias respiratórias e musculares lisas, hepatócitos, condrócitos, células endoteliais, células epiteliais, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, células dendríticas, Linfócitos T e B.	Ca^{2+} , fosfolipase C, fosfolipase D, fosfolipase A_2 , NF- κ B	$G_{q/11}$
H_2	Células nervosas, das vias respiratórias e musculares lisas, hepatócitos, condrócitos, células endoteliais, células epiteliais, neutrófilos, eosinófilos, monócitos, células dendríticas, Linfócitos T e B, estômago e coração.	Adenilato ciclase, aumento de AMPc, proteína quinase C p70S6 quinase, c-Fos, c-Jun.	G_s
H_3	Neurônios histaminérgicos, eosinófilos, células dendríticas, monócitos, baixa expressão em tecidos periféricos.	Ca^{2+} , MAP quinase, inibição de AMPc	$G_{i/o}$
H_4	Medula óssea e células hematopoiéticas periféricas, eosinófilos, neutrófilos, células dendríticas, linfócitos T, basófilos, mastócitos, hepatócitos, tecidos periféricos, baço, timo, pulmão, intestino delgado, cólon e coração.	Ca^{2+} , inibição de AMPc	$G_{i/o}$

Fonte: Adaptado de JUTEL et al., 2005.

O receptor H_1 é responsável por muitos dos sintomas presentes nas manifestações alérgicas. A ativação deste receptor pela histamina ativa a proteína G_q e estimula a via intracelular do fosfatidilinositol (PIP_2), culminando na formação de inositol 1,4,5 - trifosfato (IP_3) e diacilglicerol (DAG), elevando a concentração intracelular de cálcio. Além disso, o receptor H_1 pode ativar outras vias de sinalização, tais como fosfolipase D e fosfolipase A (CHILVERS et al., 1994; LEURS

et al., 1995). Recentemente, foi demonstrado que a estimulação do receptor H_1 pode ativar o fator de transcrição nuclear κB (NF- κB), que também está envolvido no desenvolvimento de doenças alérgicas (BAKKER et al., 2001).

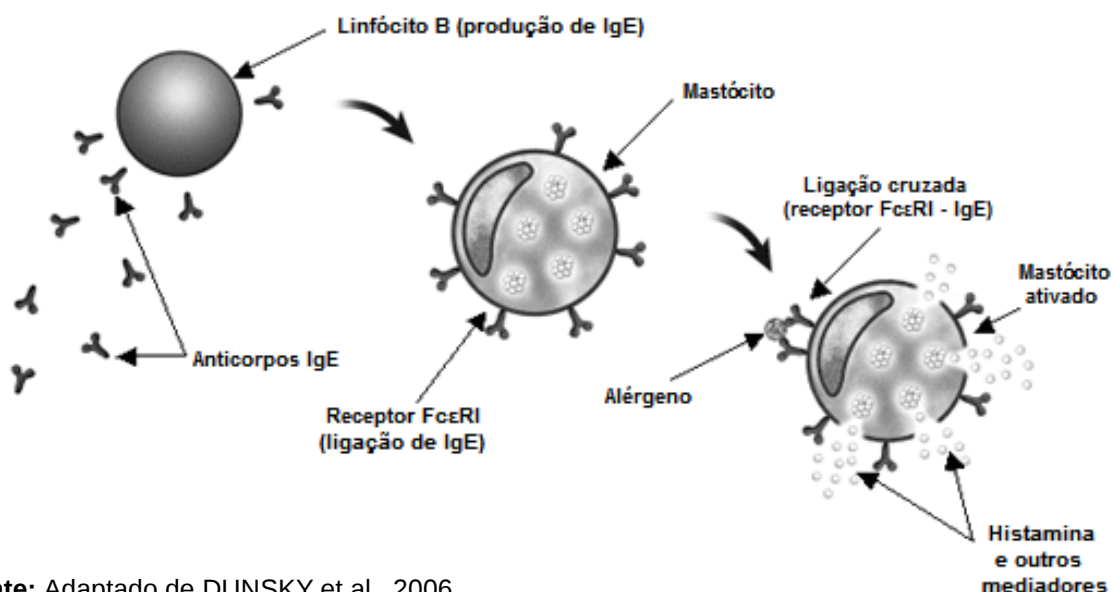
2.4 O PROCESSO ALÉRGICO E O PAPEL DA HISTAMINA

Nos estágios iniciais da alergia, um alérgeno exposto pela primeira vez no organismo é apresentado por uma célula apresentadora de antígenos provocando uma resposta nos linfócitos T_H2 , pertencentes a um subconjunto de linfócitos T. Estas células interagem com linfócitos B, cuja função é a produção de anticorpos. Através da liberação de citocinas pelos linfócitos T_H2 , os linfócitos B são estimulados a produzirem grande quantidade de um tipo particular de anticorpo conhecido como IgE. Esta imunoglobulina é secretada e circula no sangue ligando-se a um receptor IgE específico (um tipo de receptor Fc chamado $Fc\epsilon RI$) localizado sobre a superfície de mastócitos e basófilos, deixando-os sensibilizados ao alérgeno. A reexposição deste mesmo alérgeno, pode causar sua ligação às moléculas de IgE sobre a superfície dos mastócitos ou basófilos. A ativação dessas células pelo alérgeno inicia-se a partir da ligação cruzada entre receptores $Fc\epsilon RI$ e IgE, ou seja, ocorre quando mais de um complexo receptor-IgE interage com a mesma molécula alergênica, ativando a célula sensibilizada (AKDIS; BLASER, 2003; FERREIRA, 2004; BRADDING et al., 2006).

Mastócitos e basófilos ativados são submetidos a um processo chamado de degranulação durante o qual ocorre a liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios (citocinas, leucotrienos e prostaglandinas) a partir de seus grânulos para o tecido circundante. A histamina liberada exerce seus efeitos principalmente através da ação sobre os receptores H_1 , podendo ocorrer vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, secreção de muco, estimulação dos nervos e contração do músculo liso. Dependendo do indivíduo, do alérgeno, e do modo de introdução deste, os sintomas podem apresentar-se em nível sistêmico (anafilaxia clássica), ou localizado, em órgãos específicos (eczema, broncoespasmo) (KEMP; LOCKEY, 2002; AKDIS; BLASER, 2003). A figura 3 mostra o processo de sensibilização e ativação do mastócito assim como a liberação de histamina e outros mediadores de seus grânulos para o meio extracelular.

Substâncias que atuam sobre os receptores H_1 , impedindo sua ativação, inibem os efeitos causados pela liberação de histamina durante a resposta alérgica, provando serem agentes terapêuticos eficazes no alívio dos sintomas de manifestações alérgicas, como rinite, sinusite, conjuntivite, prurido, urticária e outras reações de hipersensibilidade, constituindo assim uma importante classe de drogas (SAXENA et al., 2006; HOLGATE; POLOSA, 2008).

Figura 3 – Sensibilização, ativação e degranulação do mastócito.



Fonte: Adaptado de DUNSKY et al., 2006.

2.5 ANTI-HISTAMÍNICOS H_1

O conhecimento da biologia molecular avançou dramaticamente ao longo dos últimos anos, especialmente na expressão de receptores acoplados a proteína G em sistemas celulares recombinantes. Isso mudou o entendimento sobre a maneira como os fármacos interagem com tais receptores para exercer seus efeitos. Em modelos clássicos de receptores acoplados a proteína G, receptores de histamina precisavam ser bloqueados por agentes antagonistas para impedir a ativação das vias de transdução de sinal. No entanto, foi demonstrado que tais receptores podem apresentar ativação espontânea, independente da ocupação destes por um antagonista (atividade constitutiva). Esta atividade constitucional (fisiológica) do receptor levou a uma reclassificação dos fármacos que atuam sobre os receptores acoplados a proteína G. Desta forma, drogas tradicionalmente consideradas

antagonistas são chamadas agora de agonistas inversos quando conseguem reduzir a atividade constitucional dos receptores; ou antagonistas neutros, quando não alteram a atividade basal desses receptores, mas interferem com a ligação dos seus agonistas. Visto que os fármacos que atuam sobre os receptores de histamina podem ser agonistas inversos ou antagonistas neutros, tem-se sugerido a adoção do termo “anti-histamínico H_1 ” (BAKKER et al., 2000; LEURS et al., 2002; NIJMEIJER et al., 2010).

Tradicionalmente, os anti-histamínicos H_1 eram classificados de acordo com sua estrutura química em seis grupos: etanolaminas, etilenodiaminas, alquilaminas, piperazinas, piperidinas e fenotiazinas. No entanto, esta classificação tinha relevância clínica limitada. Atualmente os anti-histamínicos H_1 podem ser classificados como fármacos de “primeira geração”, conhecidos por ter ação sedativa, e os compostos de “segunda geração”, que são relativamente não sedativos (MAHDY; WEBSTER, 2011). A Tabela 2 distingue os anti-histamínicos H_1 de acordo com sua classificação.

A primeira geração de anti-histamínicos H_1 tais como clorfeniramina, clemastina, ciproheptadina, hidroxizina e prometazina são não-seletivos em sua ligação ao receptor H_1 . A maioria destes fármacos têm fracos efeitos antimuscarínicos, alguns bloqueiam os receptores alfa-adrenérgicos (prometazina) e outros podem inibir tanto a atividade da histamina quanto da 5-hidroxitriptamina (ciproheptadina). Devido à sua lipofilia, peso molecular relativamente baixo e não reconhecimento pela bomba de efluxo glicoproteína-P, os anti-histamínicos H_1 de primeira geração penetram os capilares não fenestrados do SNC (barreira hematoencefálica) e ligam-se a receptores H_1 centrais, interferindo com as ações da histamina sobre estes receptores (SIMONS, 2002; CHEN et al., 2003).

A segunda geração de anti-histamínicos H_1 , tais como cetirizina, desloratadina, fexofenadina, levocetirizina, loratadina e mizolastina possuem afinidade significativamente inferior para os receptores muscarínicos, alfa-adrenérgicos e serotoninérgicos e ultrapassam pouco a barreira hematoencefálica devido à sua baixa solubilidade lipídica e peso molecular mais elevado, além de terem maior afinidade pela bomba de efluxo glicoproteína-P. A sua propensão para

ocupar os receptores H_1 do SNC varia de zero para fexofenadina a 30% para a cetirizina (WANG et al., 2001; CHEN et al., 2003; GOLIGHTLY; GREOS, 2005).

Tabela 2 – Classificação dos anti-histamínicos H_1 .

Classe química	Classe funcional	
	Primeira geração	Segunda geração
Alquilaminas	bronfeniramina, clorfeniramina, dimetindeno, feniramina, triprolidina	acrivastina
Piperazinas	buclicina, ciclizina, hidroxizina, meclizina	cetirizina, levocetirizina
Piperidinas	azatadina, ciproheptadina, difenilpiralina, cetotifeno	desloratadina, ebastina, fexofenadina, levocabastina, loratadina, mizolastina, olopatadina
Etanolaminas	carbinoxamina, clemastina, dimenidrinato, difenidramina, doxilamina	_____
Etilenodiaminas	antazolina, mepiramina, tripelenamina	_____
Fenotiazinas	metdilazina, prometazina	_____
Outros	_____	azelastina, emedastina, epinastina

Fonte: Adaptado de SIMONS, 2004.

Os anti-histamínicos H_1 , de primeira e segunda geração, possuem efeitos antialérgicos e anti-inflamatórios bem documentados. Eles exercem estes efeitos através de sua atividade agonista inversa em receptores H_1 periféricos e através de outros mecanismos não mediados pelo receptor (inibição da liberação de histamina de mastócitos e basófilos e inibição da ativação de células inflamatórias). Atualmente estes fármacos estão entre os mais prescritos no tratamento de uma variedade de manifestações alérgicas (SIMONS, 2004; GILLARD et al., 2005).

Todos os anti-histamínicos H_1 mostram-se eficazes no tratamento de rinite alérgica intermitente e persistente, aliviando o prurido e ardor nos olhos, boca e nariz, espirros, rinorréia e congestão nasal, melhorando assim a qualidade de vida. Eles também são úteis no tratamento de urticária aguda e crônica, proporcionando alívio sintomático do prurido, além de reduzir o número, tamanho e duração das erupções individuais. No entanto, os fármacos de segunda geração, apesar de terem custo mais alto, são a escolha preferida no tratamento destes transtornos devido à ausência de efeito sedativo que prejudica o desempenho cognitivo e psicomotor e efeitos adversos antimuscarínicos como retenção urinária, ressecamento da boca, visão embaçada e constipação (CUVILLO et al., 2006; MAHDY; WEBSTER, 2011).

2.6 O ÍLEO DE COBAIA COMO MODELO EXPERIMENTAL

Muitos agonistas induzem a contração do músculo liso da cobaia atuando em diferentes tipos de receptores, como a histamina (receptor H_1), acetilcolina (receptor muscarínico M_3), serotonina (receptores $5-HT_2$) e prostaglandinas (receptores EP_1 , EP_3 e TP). Além disso, o músculo liso pode ser contraído através da despolarização da membrana plasmática das células musculares pelos chamados agentes despolarizantes como o cloreto de potássio e o cloreto de bário (VIANA et al., 2007; LARSSON et al., 2011; NATIVIDAD et al., 2011; SANTOS et al., 2012). Entretanto, existem drogas que inibem a contração induzida por mais de uma classe de agente contrátil, seja ele agonista ou despolarizante. Este efeito sobre a musculatura lisa, chamado espasmolítico não-seletivo, é muito observado com extratos de plantas, e as substâncias com ação espasmolítica têm aplicação em vários processos fisiopatológicos como asma, hipertensão, diarreia e cólicas decorrentes de espasmos intestinais e uterinos (CAVALCANTE, 2001).

O efeito espasmolítico não-seletivo é observado quando uma droga induz um relaxamento através de um mecanismo que interfere em uma via comum da contração muscular. Este mecanismo pode ocorrer pela interação da droga com diferentes alvos na célula, como por exemplo: canais iônicos regulados por armazenamento ou operados por voltagem, trocadores iônicos, bombas de íons ATP-dependentes; enzimas tais como quinases, fosfatases, fosfolipases e fosfodiesterases; receptores de rianodina e IP_3 . (ABDEL-LATIF 2001; JANSSEN,

2002; WEBB, 2003; LAPORTE et al, 2004; HIROTA et al, 2007). De fato, alguns extratos de plantas, frações e compostos purificados exibem efeito espasmolítico não-seletivo sobre a musculatura lisa de cobaia por interferência com o influxo de cálcio através de canais operados por voltagem (GHAYUR et al, 2007;. ROTONDO et al, 2009;. KHAN et al., 2010) ou por modular os canais de potássio, reduzindo a concentração intracelular de cálcio (SANTOS et al., 2012).

Historicamente, a atividade e potência de anti-histamínicos H_1 foram verificadas por meio de estudos farmacológicos padrão, particularmente a partir da contração do músculo liso da traqueia ou do íleo da cobaia. Nesses tecidos, drogas que atuam seletivamente sobre o receptor H_1 , inibindo a contração muscular causada pela histamina, deslocam paralelamente para a direita as curvas concentração-efeito cumulativas de histamina. Este comportamento é consistente com aqueles produzidos pelos antagonistas dos receptores H_1 e substâncias que possuem efeitos semelhantes podem ser bons candidatos a fármacos anti-histamínicos H_1 (HILL et al., 1997).

3. Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a atividade anti-histamínica do extrato seco da casca de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o efeito *in vitro* do extrato de *Schinus terebinthifolius* sobre a amplitude das contrações induzidas por diferentes agentes contráteis em íleo de cobaia.
- Analisar o efeito *in vitro* da hidroxizina sobre a amplitude das contrações induzidas pela histamina, carbacol e KCl em íleo de cobaia.
- Verificar o efeito *in vitro* da associação do extrato de *Schinus terebinthifolius* com a hidroxizina sobre a magnitude das contrações induzidas pela histamina.
- Constatar o efeito espasmolítico *in vitro* do verapamil sobre a magnitude das contrações induzidas por diferentes agentes contráteis.
- Observar o efeito do extrato de *Schinus terebinthifolius*, da hidroxizina e da associação deles sobre as curvas concentração-efeito cumulativas para a histamina.
- Avaliar o efeito anti-histamínico *in vivo* do extrato de *Schinus terebinthifolius* através do modelo de edema de pata induzido pela histamina.

4. Artigo

Artigo submetido ao Journal of Ethnopharmacology

Antihistaminic activity of *Schinus terebinthifolius* bark extract

Paulo Alexandre Nunes Neto^a, Alice Valença Araújo^b, Germana Freire Rocha Caldas^a, João Henrique da Costa Silva^b, Almir Gonçalves Wanderley^{b,*}

^a Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pernambuco, 50740-521, Recife, PE, Brazil.

^b Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

* Corresponding author at: Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, 50670-901 – Cidade Universitária, Recife, PE, Brazil. Tel.: +55 81 21268530; fax: +55 81 21268976. E-mail address: almirgw@globo.com (A. G. Wanderley).

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) popularly known as "Aroeira", is found throughout the Brazilian coast and has been used in traditional medicine, especially in the treatment of disorders of inflammatory origin, gastric and respiratory. *Aim of the study:* To evaluate the possible antihistaminic activity of hydroalcoholic extract of the stem bark of *Schinus terebinthifolius* using *in vivo* and *in vitro* experimental models. *Materials and methods:* *In vitro* assays were performed to investigate the effect of the extract on the contractions induced by histamine, carbachol and potassium chloride in isolated guinea pig ileum. To evaluate the *in vivo* antihistaminic activity, the extract of *Schinus terebinthifolius* was administered in Wistar rats submitted to paw edema induced by histamine. *Results:* The extract of *Schinus terebinthifolius* (250, 500 and 1000 µg/mL) reduced statistically the histamine-induced contraction by 9.1 ± 1.8 , 50.2 ± 2.0 and $68.9 \pm 2.0\%$, respectively. However, there was no inhibition of the contractile responses induced by carbachol and KCl. Hydroxyzine (0.125 and 0.250 µM), a H₁-antihistamine, inhibited the responses of histamine (25.9 ± 3.1 and $51.2 \pm 3.0\%$, respectively), but did not alter the contractions induced by carbachol or KCl. The association of *Schinus terebinthifolius* with hydroxyzine (250 + 0.125 and 500 µg/mL + 0.250 µM) caused a significant potentiation of the inhibitory effect to respectively 67.0 ± 3.2 and $85.1 \pm 2.1\%$. The extract also induced a shift to the right of the

concentration-effect curves to histamine and, at the concentrations of 500 and 1000 $\mu\text{g/mL}$, it also reduced the maximal effect to 65.7 ± 1.9 and $49.4 \pm 2.5\%$, respectively. In addition, the extract (100, 200 and 400 mg/kg) produced a decrease of paw edema in the 1st hour after its induction (edema peak) to 33.9, 48.4 e 54.8%, respectively, whereas hydroxyzine (70 mg/kg) inhibited 56.5%. *Conclusion:* The data from this study suggests that the bark extract of *Schinus terebinthifolius* has antihistaminic effect (H_1), evidenced by antagonism of contractile responses induced by histamine in guinea pig ileum and inhibition of paw edema.

Keywords: *Schinus terebinthifolius*, Anacardiaceae, antihistamine, guinea pig ileum; paw edema.

1. Introduction

There is a broad consensus that the prevalence of certain allergic diseases has increased in several countries during the past few decades, representing one of the major medical and socioeconomic problems globally. Allergy is a common disease that affects mankind with diverse manifestations. It can present itself as several kinds of immune reactions including type-I hypersensitivity reactions and activation of mast cells (Pawankar et al., 2011; Ring et al., 2001). The mast cell is a key effector in allergic inflammation and the release of histamine by activated mast cells and basophils contributes significantly to the symptoms of rhinitis, sinusitis, conjunctivitis, urticaria and other allergic reactions including angioedema, asthma, anaphylaxis and contact dermatitis (Larson et al., 2007).

Among the inflammatory mediators released from mast cells, histamine is the best characterized and most potent vasoactive mediator implicated in acute phase of hypersensitivity. Its release leads to events such as smooth muscle contraction, vasodilatation and increased vascular permeability (Kay, 2000; Kim et al., 2005). Four human G-protein coupled histamine receptor subtypes (H_{1-4}) are currently recognized to mediate various actions of this monoamine. The histamine H_1 receptor has been an attractive target for drug discovery and H_1 receptor antagonists have proved to be effective therapeutic agents for allergy and respiratory disorders, thus consisting an important class of drugs (Saxena et al., 2006).

The Brazilian pepper tree or Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae) is a native perennial plant from Latin America and is broadly found in Northeast region of Brazil (Gazzaneo et al., 2005). In folk medicine, it has been used as a remedy for ulcers, respiratory problems, wounds, rheumatism, gout, tumors, diarrhea, skin ailments, arthritis (Morton, 1978) and as an antiseptic, anti-inflammatory, balsamic and haemostatic (Medeiros et al., 2007). The importance of this plant has promoted its inclusion in Brazilian Pharmacopeia (Brandão et al, 2006).

Regarding its toxicity, studies involving the acute and subacute oral administration of *Schinus terebinthifolius* bark extract have shown that it did not induce any toxic effects in Wistar rats (Lima et al., 2009).

This plant has been frequently studied from a chemical viewpoint and the presence of several constituents has already been established. This constituents includes: phenols (Ceruks et al., 2007), pentagalloylglucose - precursor of many complex structures of tannins (Cavalher-Machado et al., 2008) and flavonoids (Degáspari et al., 2005; Kassem et al., 2004). Furthermore, we have previously shown that the *Schinus terebinthifolius* bark extract presented condensed tannins (catechins), gallic acid, flavonoids, saponines, cinnamic acid derivatives, triterpenoids/steroids, monoterpenes, sesquiterpenes and sugars (Lima et al., 2009).

Several medicinal plants are used ethnomedically in the treatment of allergy but there is a need to conduct pharmacological studies to ascertain their therapeutic values (Taur and Patil, 2011). Although the leaves of *Schinus terebinthifolius* has been shown to present anti-allergic properties in animal models (Cavalher-Machado et al., 2008), there is no published data reporting antihistaminic activity for the stem bark. Therefore, the aim of the present study was to evaluate the antihistaminic activity of dry extract from the bark of *Schinus terebinthifolius* using *in vivo* and *in vitro* experimental models.

2. Material and methods

2.1. Plant material and extraction

Bark from the stem of *Schinus terebinthifolius* Raddi were collected in the remains of the Atlantic rainforest located in the municipality of Cabo de Santo Agostinho (08° 18' 38.1"S and 34° 59' 08.9"W.Gr), in the Brazilian State of

Pernambuco, in May 2011. A voucher specimen authenticated by the Federal University of Pernambuco's Department of Botany, was deposited at Geraldo Mariz Herbarium under record number 8758. Extraction was performed by maceration and air dried, and 5 kg of pulverized bark was added to 10 L of ethanol 70% at room temperature, for 7 days, and was occasionally shaken. Crude ethanolic extract was filtered and evaporated under reduced pressure at 45°C for the total elimination of alcohol, followed by lyophilization to obtain dry residue. The dry extract of *Schinus terebinthifolius* was kept at room temperature until use and suspended in distilled water.

2.2. Animals

Adult guinea pigs (*Cavia porcellus*) weighing 350 - 500 g and Wistar rats (*Rattus norvegicus*) weighing 250 - 300 g of both sexes, obtained from bioterium of the Federal University of Pernambuco's Department of Physiology and Pharmacology were used for the *in vitro* and *in vivo* experiments, respectively. The animals had free access to standard food and water, were kept in separate rooms at $22 \pm 2^\circ\text{C}$ and submitted to a 12 h light-dark cycle. All the experimental protocols were submitted to and approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the UFPE, under license no. 045543 in accordance with the National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

2.3. Measurement of ileum contractile activity

After 18 h of fasting with water available *ad libitum*, the guinea pigs were euthanized by CO₂ inhalation. Then, the ileum was immediately removed, cleaned of connective tissue and immersed in nutrition solution at room temperature. Segments of the ileum (about 2 cm length) were individually suspended in 5 mL organ baths containing modified Krebs' solution at 37°C and continuously gassed with carbogen mixture (95% O₂ and 5% CO₂), oriented along their longitudinal axis. Tissues were allowed to stabilize for 30 min under resting load of 1 g, and they were washed every 10 min. The contractions were measured using force transducers coupled to an amplifier model AECAD 04F, connected to a computer with AQCAD 2.0.4 software, both from AVS Projects (Brazil).

2.4. Experimental protocols

2.4.1. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract on the contractions induced by histamine, carbachol and KCl

After the stabilization period, two contractions with similar amplitude were obtained by 1 μ M histamine, 1 μ M carbachol or 40 mM KCl in interval of 30 min. The second contraction was defined as the control (100%). Then, the extract of *Schinus terebinthifolius* (250, 500 and 1000 μ g/mL) was added to the bath. Each preparation was exposed to only one concentration of extract. After an incubation period of 20 min, a new contraction was induced by the contractile agent in presence of the extract and its amplitude was measured. The inhibitory effects exerted by the extract were compared to control.

2.4.2. Effect of hydroxyzine and *Schinus terebinthifolius* bark extract + hydroxyzine on the contractions induced by histamine

After appropriate stabilization of the preparations, the ileum was contracted two times with 1 μ M histamine in an interval of 30 min. The second contraction was defined as control (100%). Then, hydroxyzine (0.125 and 0.250 μ M) or hydroxyzine + *Schinus terebinthifolius* bark extract (0.125 + 250 and 0.250 μ M + 500 μ g/mL) was added to bath. After an incubation period of 20 min, a third contraction was induced by histamine and its amplitude was measured. The inhibitory effects were compared to control.

2.4.3. Effect of hydroxyzine on the contractions induced by carbachol and KCl

Carbachol- or KCl-induced contractions were obtained as described earlier. The second contraction was defined as control (100%). Then, hydroxyzine (0.250 μ M) was added to bath. After an incubation period of 20 min, a new contraction was induced by the contractile agent and its amplitude was measured. The inhibitory effects were compared to control.

2.4.4. Effect of verapamil on the contractions induced by histamine, carbachol and KCl

After the stabilization period, two contractions with similar amplitude were obtained by 1 μ M histamine, 1 μ M carbachol or 40 mM KCl in interval of 30 min. The second contraction was defined as the control (100%). Then, verapamil (0.350 and 0.700 μ M) was added to the bath. Each preparation was exposed to only one concentration of extract. After an incubation period of 20 min, a new contraction was induced by the contractile agent in presence of verapamil and its amplitude was measured. The inhibitory effects were compared to control.

2.4.5. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract, hydroxyzine and their associations on the concentration-response curve to histamine

At the end of the stabilization period, two contractions with similar scope were elicited by 1 μ M histamine in an interval of 30 min. Afterwards, the preparations were incubated with *Schinus terebinthifolius* bark extract (250, 500 and 1000 μ g/mL), hydroxyzine (0.125 and 0.250 μ M) or hydroxyzine + *Schinus terebinthifolius* bark extract (0.125 + 250 and 0.250 μ M + 500 μ g/mL). Each preparation was exposed to only one concentration of extract. After an incubation period of 20 min, histamine was cumulatively added to bath (10^{-9} up to 10^{-4} M) and a concentration-response curve was obtained. The second contraction was defined as control (100%) and the responses were calculated proportionally to this value.

2.5. Histamine-induced paw edema in rats

The experiment was carried out using the method described by Winter et al. (1962), with slight modifications. After 12 h of fasting, Wistar rats were randomly divided into five groups, so that each group consisted of three animals of both sex. The first group received drinking water (10 ml/kg p.o.), and the second group was treated with hydroxyzine (70 mg/kg, p.o.). The others groups were orally pretreated with *Schinus terebinthifolius* bark extract (100, 200 and 400 mg/kg, respectively). One hour after treatment, edema was induced by injecting histamine (0.1% w/v, 0.1 mL) in the subplantar region of the right hind paw. The results were obtained by the

difference of the right paw volume before and after 0.5, 1, 2, 3 and 4 h of edema induction. Paw volume was measured by plethysmography (Ugo Basile plethysmometer - Model 7140, Italy)

2.6. Solutions and drugs

In experimental procedures, potassium chloride (KCl), histamine, carbachol, hydroxyzine dihydrochloride and verapamil hydrochloride were manually diluted in distilled water and added to the organ bath. These drugs were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, USA). The nutrient solution used was modified Krebs' solution with the following composition (mM): NaCl (117.0), NaHCO₃ (25.0), NaH₂PO₄ (1.2), CaCl₂ (2.5), KCl (4.7), MgSO₄ (1.3) and glucose (11.0), pH = 7.4. All components used in this solution were purchased from Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brazil).

2.7. Statistical analysis

The results were expressed as mean $\pm$ standard error of mean (S.E.M). Differences between means were determined using paired Student's t-test or one way analysis of variance (ANOVA) followed Newman-Keuls multiple comparison test. The level of significance for rejection of the null hypothesis was set at 5% ($P < 0.05$). The concentration of a substance that reduces the response to an agonist by 50% (IC₅₀) was obtained by non-linear regression. The maximum effect and the negative logarithm of the molar concentration of agonist that produces 50% of its maximal effect (pEC₅₀) were obtained graphically from concentration-response curve. The analyses were performed using GraphPad Prism 5.0 software from GraphPad Software Inc. (USA).

3. Results

3.1. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract on the contractions induced by histamine, carbachol and KCl

Schinus terebinthifolius bark extract antagonized in a concentration-dependent manner the contractions induced by 1 μ M histamine in guinea pig ileum. The percentage reductions of the contractions ($n = 6$) were $9.1 \pm 1.8\%$, $50.2 \pm 2.0\%$ and $68.9 \pm 2.0\%$ to 250, 500 and 1000 μ g/mL of extract, respectively (Fig. 1A). The IC_{50} (95% confidence interval) was calculated to be 487.5 μ g/mL (460.3 - 517.6 μ g/mL). The extract showed no effect on the carbachol- or KCl-induced contractions (Fig. 1B and C).

3.2. Effect of hydroxyzine and *Schinus terebinthifolius* bark extract + hydroxyzine on the contractions induced by histamine

Hydroxyzine and its association with *Schinus terebinthifolius* bark extract decreased the amplitude of histamine-induced contractions in a concentration-dependent manner. The percentage reductions in the contractions ($n = 6$) were $25.9 \pm 3.1\%$ and $51.2 \pm 3.0\%$ to 0.125 and 0.250 μ M of hydroxyzine, respectively; $67.0 \pm 3.2\%$ and $85.1 \pm 2.1\%$ to 250 + 0.125 and 500 μ g/mL + 0.250 μ M of *Schinus terebinthifolius* + hydroxyzine, respectively. Figure 2 shows the effect caused for this association.

3.3. Effect of hydroxyzine on the contractions induced by carbachol and KCl

At the concentration studied, hydroxyzine showed no effect on the carbachol- or KCl-induced contractions (Fig. 3). The percentages of contractions induced by carbachol and KCl ($n = 6$) were $100.4 \pm 2.1\%$ and $102.3 \pm 1.6\%$, respectively.

3.4. Effect of verapamil on the contractions induced by histamine, carbachol and KCl

Verapamil (0.350 μ M) decreased the amplitude of contractions induced by histamine and carbachol to $52.0 \pm 4.3\%$ e $54.8 \pm 2.3\%$, respectively, while the contractions elicited with KCl were reduced to $56.3 \pm 2.9\%$ by the concentration two times the one that inhibited the contractions of histamine and carbachol (Fig. 4).

3.5. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract, hydroxyzine and their associations on the concentration-response curve to histamine

Schinus terebinthifolius concentration-dependently inhibited the cumulative contractions induced by histamine shifting all the curves to the right compared to control, with maximum effect ($E_{\max}$) reduction for the two highest concentrations of the extract (Fig. 5A). $E_{\max}$ was reduced from $99.0 \pm 1.4\%$ (control) to $65.7 \pm 1.9\%$ and $49.4 \pm 2.5\%$ in the presence 500 and 1000 μ g/mL of extract, respectively. Both hydroxyzine and its association with *Schinus terebinthifolius* induced a shift to the right of the concentration-response curves to histamine with decrease of the maximal amplitude (Fig. 5B and C). The pharmacological parameters, $E_{\max}$ and pEC_{50} are described in Table 1.

3.6. Histamine-induced paw edema in rats

Table 2 shows the inhibitory effect of *Schinus terebinthifolius* on acute paw edema induced by histamine in rats. The maximum phlogistic response of histamine was observed at 1st hour after the injection in the control animals. The extract caused a dose-dependent decrease of edema in the 1st hour after its induction, compared to control group. This effect was monitored up the 4th hour reaching maximum inhibition of 53.7, 70.7 and 95.1% to animals treated with 100, 200 and 400 mg/kg of extract, respectively. The extract at dose of 400 mg/kg and hydroxyzine (positive control) exhibited equipotency in reduction of edema since these values were not statistically different.

4. Discussion

Histamine plays a key role in many physiological processes and drugs targeting H₁ receptors have been used successfully for the treatment of allergy (Bachert and Maspero, 2011; Simons, 2004). Many species of plants used in folk medicine exert antihistamine effect primarily through inhibition of histamine release from mast cells or by blocking the H₁ receptor (Boskabady et al., 2010; Sunita et al., 2012; Taur and Patil, 2011).

In this study, *in vitro* experiments were performed to evaluate the effect of the extract of the bark of *Schinus terebinthifolius* on the contractions induced by different contractile agents in guinea pig ileum. The ileal smooth muscle contraction is achieved by complex mechanisms related to a cascade of events in which several mediators are involved. However, they all culminate in increasing intracellular calcium concentration $[Ca^{2+}]_i$ which activates the contraction mechanism. The increase in $[Ca^{2+}]_i$ can be directly induced by plasma membrane depolarization by depolarizing agents, such as KCl, leading to calcium influx through voltage-operated calcium channels; or it can be induced by an agonist. Agonists, such as histamine and carbachol, bind to G-protein coupled receptors and activate the phosphoinositide cascade, mediating the production of inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃), which stimulates calcium release from the sarcoplasmic reticulum; and diacylglycerol (DAG) that along with calcium, activates protein kinase C (PKC), which phosphorylates L-type calcium channels, promoting calcium influx and depolarization. Moreover, contractile agents may also increase the $[Ca^{2+}]_i$ through ryanodine receptor or induction of calcium influx across the plasma membrane through various classes of calcium channels (Watterson et al., 2005; Webb, 2003; Wray et al., 2005).

Our results showed that the *Schinus terebinthifolius* bark extract specifically inhibited the contractions induced by histamine with no effect on the contractions induced by carbachol or KCl. As expected, this effect was similar to those exerted by hydroxyzine, a H₁-antihistamine. However, it cannot be observed with verapamil, calcium channel blocker, which have non-selective spasmolytic action on smooth muscle.

First-generation H₁-antihistamines are known due to interact with other types of receptors, such as muscarinic, α -adrenergic and serotonin receptors (Simons, 2004). However, it was not observed an inhibitory effect of hydroxyzine on the

contractions induced by carbachol, suggesting that, at this concentration, hydroxyzine does not interfere with activation of muscarinic receptors. Moreover, hydroxyzine also did not change the contraction induced by KCl on ileum. Thus, it can be noticed that the extract, as well as the hydroxyzine, only inhibited histamine-induced contractions.

The antihistaminic effect of *Schinus terebinthifolius* extract was also evaluated in association with hydroxyzine. At concentrations 250 µg/mL + 0.125 µM (St + HXZ), there was an increase in the response whose resultant is greater than the sum of the separate effects, characterizing a synergism with potentiation. Paradoxically, this effect was not observed at concentrations 500 µg/mL + 0.250 µM (St + HXZ), since the response of this interaction is less than the sum of the separate effects (Wagner and Ulrich-Merzenich, 2009). Anyway, the protocol performed showed a favorable antihistaminic response from this association compared to results of their individual components.

Schinus terebinthifolius extract induced a shift to the right of the concentration-effect curves to histamine and, at high concentrations, induced a decrease of the maximal effect of histamine, suggesting a mixed antagonistic profile (surmountable and insurmountable). At the lowest concentration of the extract (250 µg/mL), the curve exhibited a pattern of reversible competition. In a typical reversible competitive antagonism there is no reduction of the maximal effect neither changes of the slope factor of the concentration-effect curve. In addition, the change of these parameters at the concentrations of 500 and 1000 µg/mL could be explained by a reduction of the number of available receptors to histamine due to high concentration of an antagonist characterized by slow dissociation kinetics (Christophe et al., 2003).

The antihistaminic activity of *Schinus terebinthifolius* extract was also demonstrated in an *in vivo* assay via inhibition of paw edema induced by histamine in rats. Histamine induces edema primarily through its action on H₁ receptors in vascular tissue. In response to this interaction, there is vasodilatation and increased vascular permeability, allowing extravasation of plasma proteins and intravascular fluid into the interstitium, with consequent edema formation. At local inflammatory response there is also polymorphonuclear leukocyte infiltration and cytokine release (Chimona et al., 2008; Kalokasidis et al., 2009). Our results show that the extract antagonized the edematogenic effects produced by histamine.

In conclusion, the results suggest that the dry extract from the bark of *Schinus terebinthifolius* has antihistaminic effect, evidenced by a significant reduction of histamine activity in all protocols performed. The probable action mechanism is a direct interaction with histamine H₁ receptors. However, further studies should be conducted in order to provide a more precise elucidation about this assumption.

Acknowledgements

The authors are grateful to Foundation to Support Science and Technology of Pernambuco State - FACEPE for financial support and also want to thank Rejane de Souza Silva for technical assistance.

References

- Bachert, C., Maspero, J., 2011. Efficacy of second-generation antihistamines in patients with allergic rhinitis and comorbid asthma. *Journal of Asthma* 48, 965-973.
- Boskabady, M. H., Ghasemzadeh, M., Nemati, H., Esmailzadeh, M., 2010. Inhibitory effect of *Crocus sativus* (saffron) on histamine (H₁) receptors of guinea pig tracheal chains. *Pharmazie* 65, 300-305.
- Brandão, M. G. L., Cosenza, G. P., Moreira, R. A., Monte-Mor, R. L. M., 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian official pharmacopoeia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16, 408-420.
- Cavalher-Machado, S. C., Rosas, E. C., Brito, F. A., Heringe, A. P., Oliveira, R. R., Kaplan, M. A. C., Figueiredo, M. R., Henriques, M. G. M. O., 2008. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. *International Immunopharmacology* 8, 1552-1560.
- Ceruks, M., Romoff, P., Fávero, O. A., Lago, J. H. G., 2007. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae). *Química Nova* 30, 597-599.

Chimona, T. S., Panayiotides, J. G., Papadakis, C. E., Helidonis, E. S., Veleqrakis, G. A., 2008. Antihistamine effects on experimental middle ear inflammatory model. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology* 265, 899-905.

Christophe, B., Carlier, B., Gillard M., Chatelain, P., Peck, M., Massingham, R., 2003. Histamine H₁ receptor antagonism by cetirizine in isolated guinea pig tissues: influence of receptor reserve and dissociation kinetics. *European Journal of Pharmacology* 470, 87-94.

Degáspari, C. H., Waszczynskyj, N., Prado, M. R. M., 2005. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. *Ciência e Agrotecnologia* 29, 617-622.

Gazzaneo, J. R. S., Lucena, R. F. P., Albuquerque, U. P., 2005. Knowledge and use of medicinal plants by local specialists in a region of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1, 9.

Kalokasidis, K., Molyva, D., Mirtsou, V., Kokkas, B., Gaulas, A., 2009. Evidence for the contribution of tumor necrosis factor in oedema formation induced by histamine in the hind paw of the rat. *Inflammation Research* 58, 437-440.

Kassem, M. E. S., El-Desoky, S. K., Sharaf, M., 2004. Biphenyl esters and biflavonoids from the fruits of *Schinus terebinthifolius*. *Chemistry of Natural Compounds* 40, 447-450.

Kay, A. B., 2000. Overview of allergy and allergic diseases: with a view to the future. *British Medical Bulletin* 56, 843-864.

Kim, S. H., Choi, C. H., Kim, S. Y., Eun, J. S., Shin, T. Y., 2005. Anti-allergic effects of *Artemisia iwayomogi* on mast cell mediated allergy model. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 230, 82-88.

Larson, A., Fumagalli, F., DiGennaro, A., Anderson, M., Lundbers, J., Edenitus, C., 2007. A new class of nitric oxide-releasing derivatives of cetirizine. *British Journal of Pharmacology* 151, 35-44.

Lima, L. B., Vasconcelos, C. F. B., Maranhão, H. M. L., Leite, V. R., Ferreira, P. A., Andrade, B. A., Araújo, E. L., Xavier, H. S., Lafayette, S. S. L., Wanderley, A. G., 2009. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. *Journal of Ethnopharmacology* 126, 468-473.

Medeiros, K. C. P., Monteiro, J. C., Diniz, M. F. F. M., Medeiros, I. A., Silva, B. A., Piuvezam, M. R., 2007. Effect of the activity of the brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globulus* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Raddi in inflammatory models. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17, 23-28.

Morton, J. F., 1978. Brazilian pepper: its impact on people, animals and the environment. *Economic Botany* 32, 353-359.

Pawankar, R., Canonica, G. W., Holgate, S. T., Lockey, R. F., 2011. White book on allergy. World Allergy Organization. Milwaukee, United States of America, 11-25.

Ring, J., Kramer, U., Shafer, T., Beherendt, H., 2001. Why are allergies increasing? *Current Opinion in Immunology* 13, 701–708.

Saxena, M., Gaur, S., Parthipati, P., Saxena, A. K. J., 2006. Synthesis of some substituted pyrazinopyridoindoles and 3D QSAR studies along with related compounds: Piperazines, piperidines, pyrazinoisoquinolines, and diphenhydramine, and its semi-rigid analogs as antihistamines (H₁). *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 14, 8249-8258.

Simons, F. E. R., 2004. Advances in H₁-antihistamines. *The New England Journal of Medicine* 351, 2203-2217.

Sunita, P., Jha, S., Pattanayak, S. P., 2012. Bronchodilatory and mast cell stabilising activity of *Cressa cretica* L.: Evaluation through *in vivo* and *in vitro* experimental models. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 5, 180-186.

Tanahashi, Y., Unno, T., Matsuyama, H., Ishii, T., Yamada, M., Wess, J., Komori, S., 2009. Multiple muscarinic pathways mediate the suppression of voltage-gated Ca²⁺

channels in mouse intestinal smooth muscle cells. *British Journal of Pharmacology* 158, 1874-1883.

Taur, D. J., Patil, R. Y., 2011. Some medicinal plants with antiasthmatic potential: a current status. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 1, 413-418.

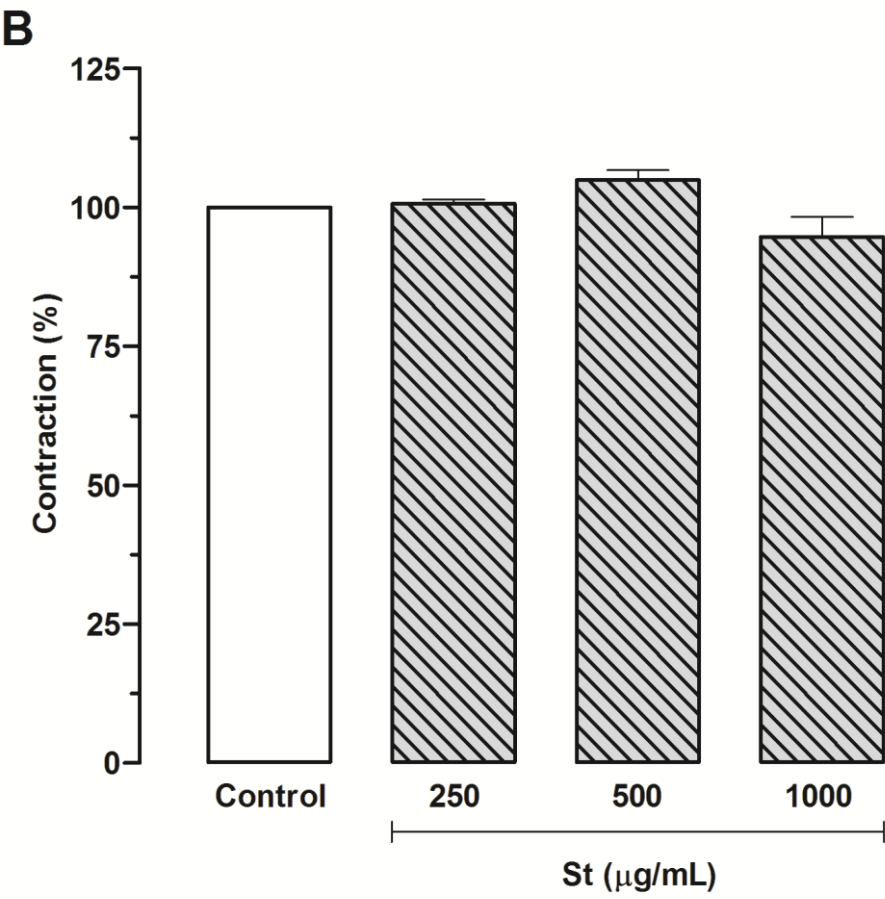
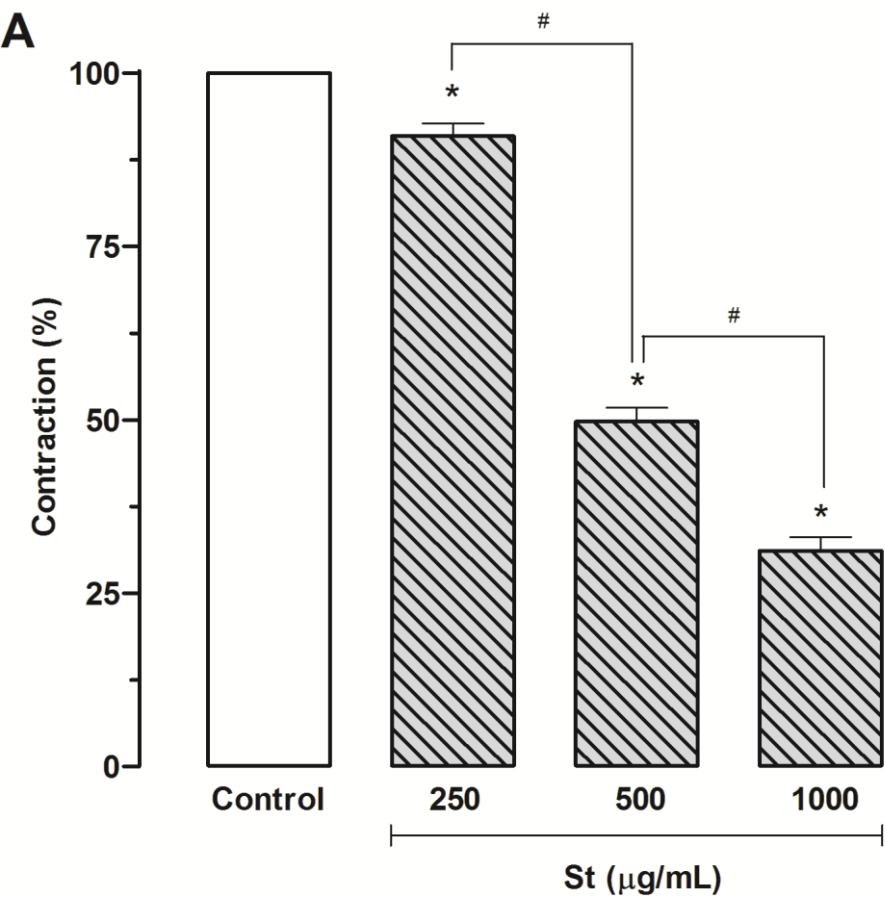
Wagner, H., Ulrich-Merzenich, G., 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 16, 97-110.

Watterson, K. R., Ratz, P. H., Spiegel, S., 2005. The role of sphingosine-1-phosphate in smooth muscle contraction. *Cellular Signalling* 17, 289-298.

Webb, R. C., 2003. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances in Physiology Education* 27, 201-206.

Winter, C. A., Risley, E. A., Nuss, G. W., 1962. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine* 111, 544-547.

Wray, S., Burdyga, T., Noble, K., 2005. Calcium signalling in smooth muscle. *Cell Calcium* 38, 397-407.



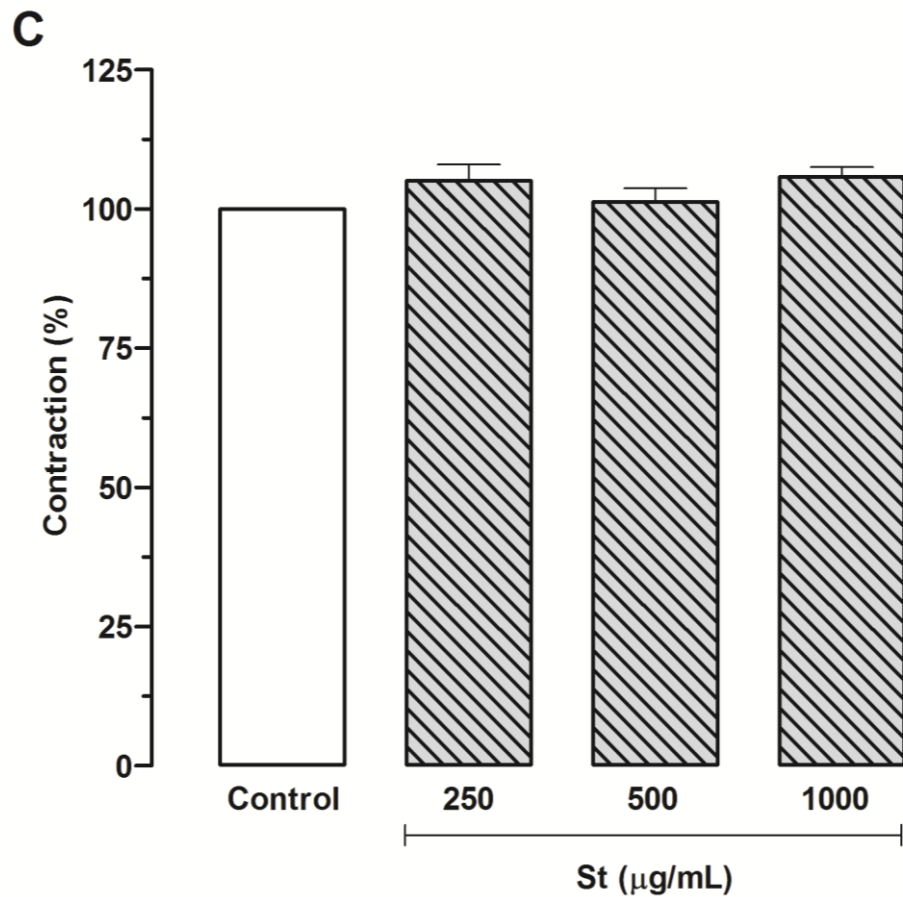


Figure 1. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract (St) on the contractions induced by 1 μ M histamine (A), 1 μ M carbachol (B) and 40 mM KCl (C) in isolated guinea pig ileum ($n = 6$). Columns and vertical bars represent the mean $\pm$ S.E.M., respectively. *Statistically different from control; #Significant difference compared to St 500 μ g/mL (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test, $p < 0.05$).

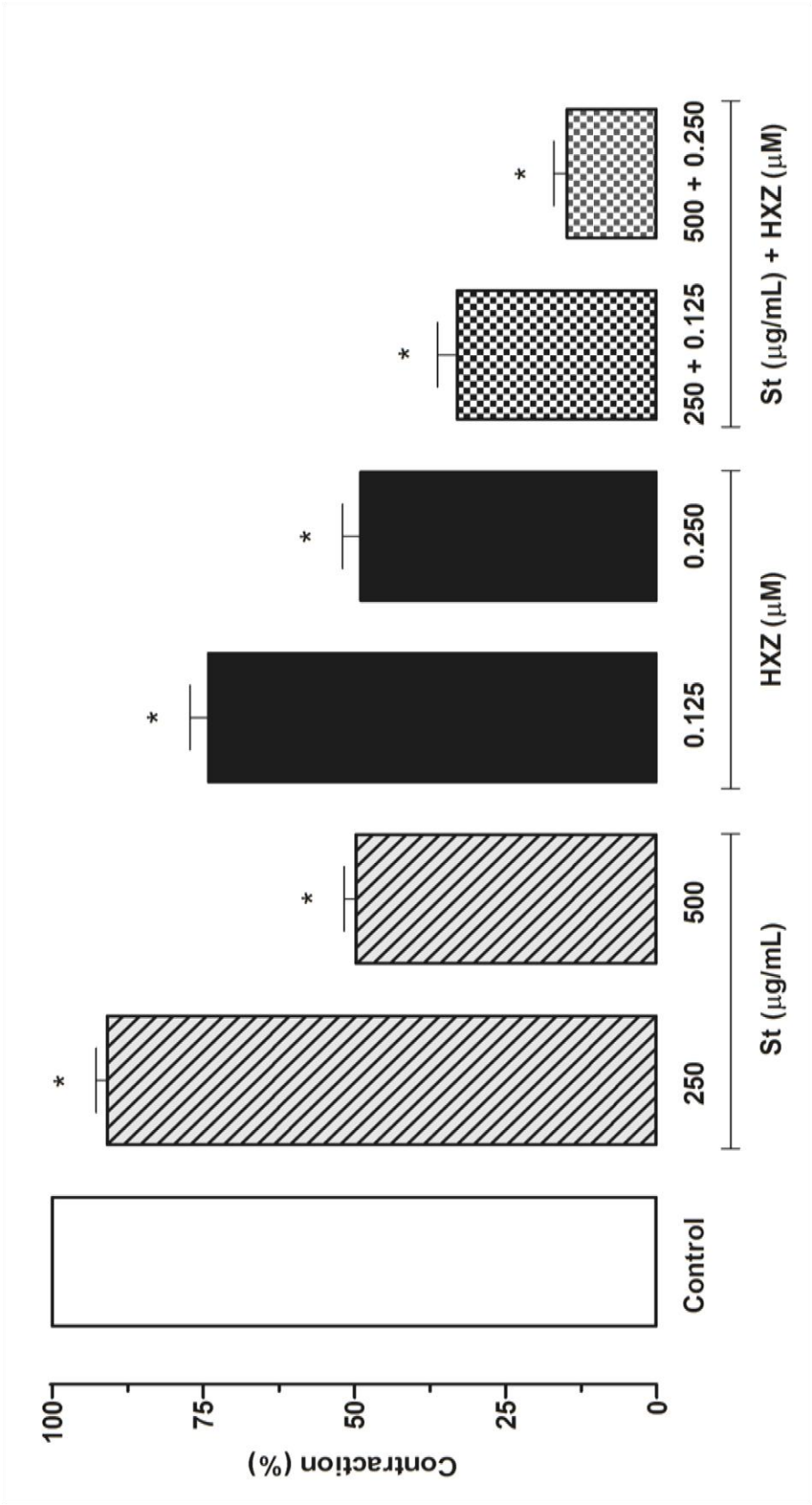


Figure 2. Effect of *Schinus terebinthifolius* bark extract (St), hydroxyzine (HXZ) and St + HXZ on the contractions induced by 1 μ M histamine in isolated guinea pig ileum (n = 6). Columns and vertical bars represent the mean $\pm$ S.E.M., respectively. *Statistically different from control (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test, p < 0.05).

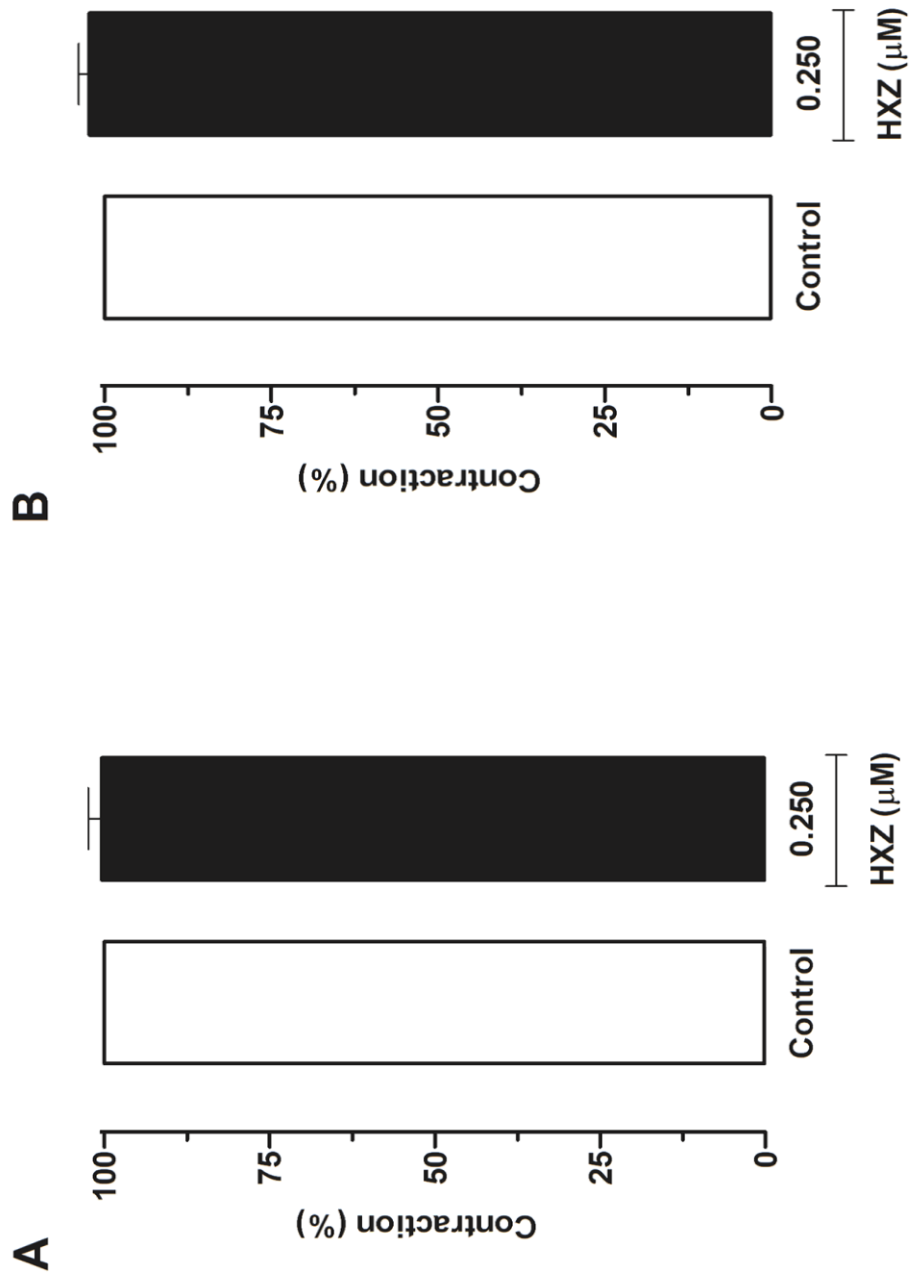


Figure 3. Effect of hydroxyzine (HXZ) on the contractions induced by 1 μM carbachol (A) and 40 mM KCl (B) in isolated guinea pig ileum (n = 6). Columns and vertical bars represent the mean ± S.E.M., respectively (Student's t-test, $p < 0.05$).

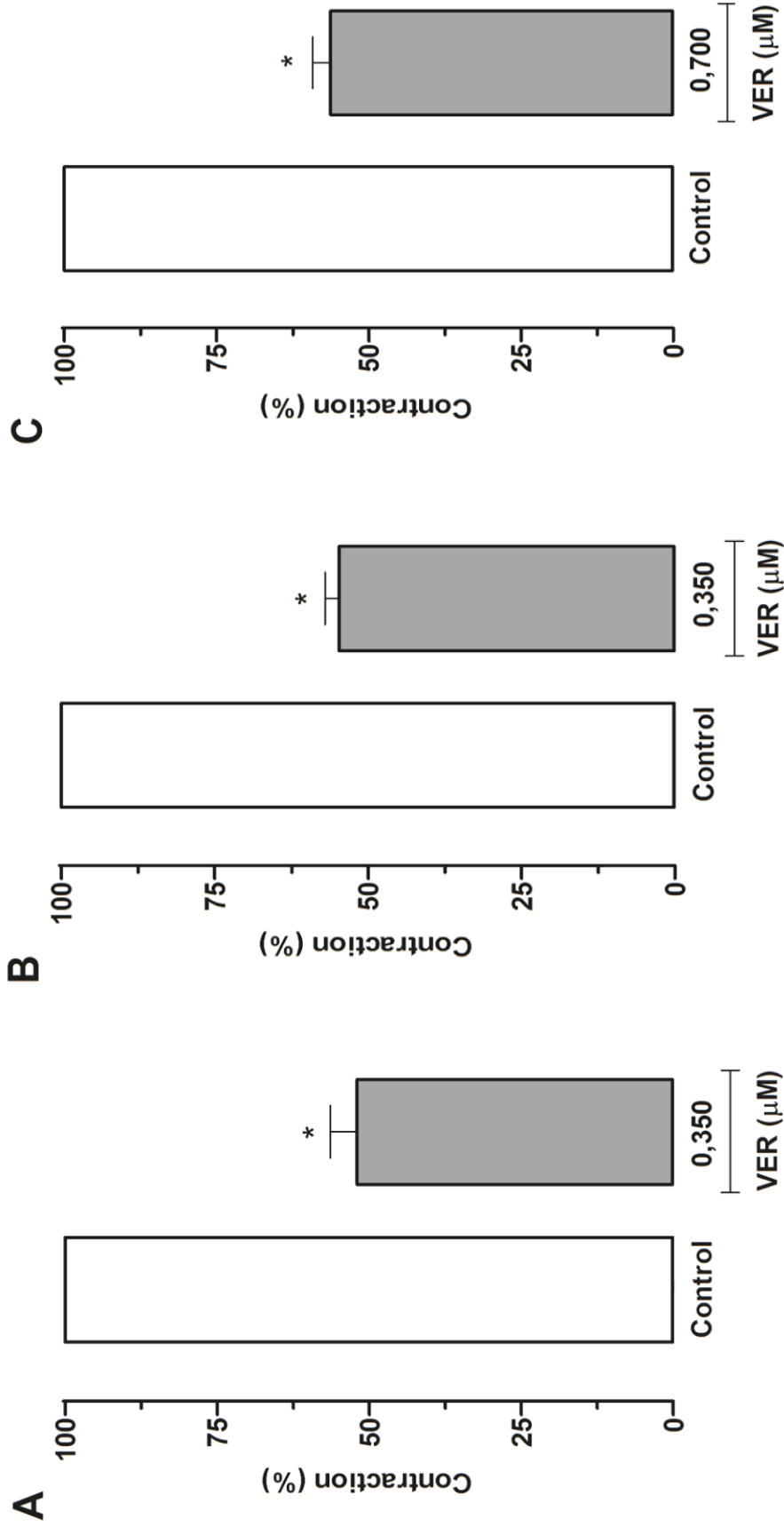
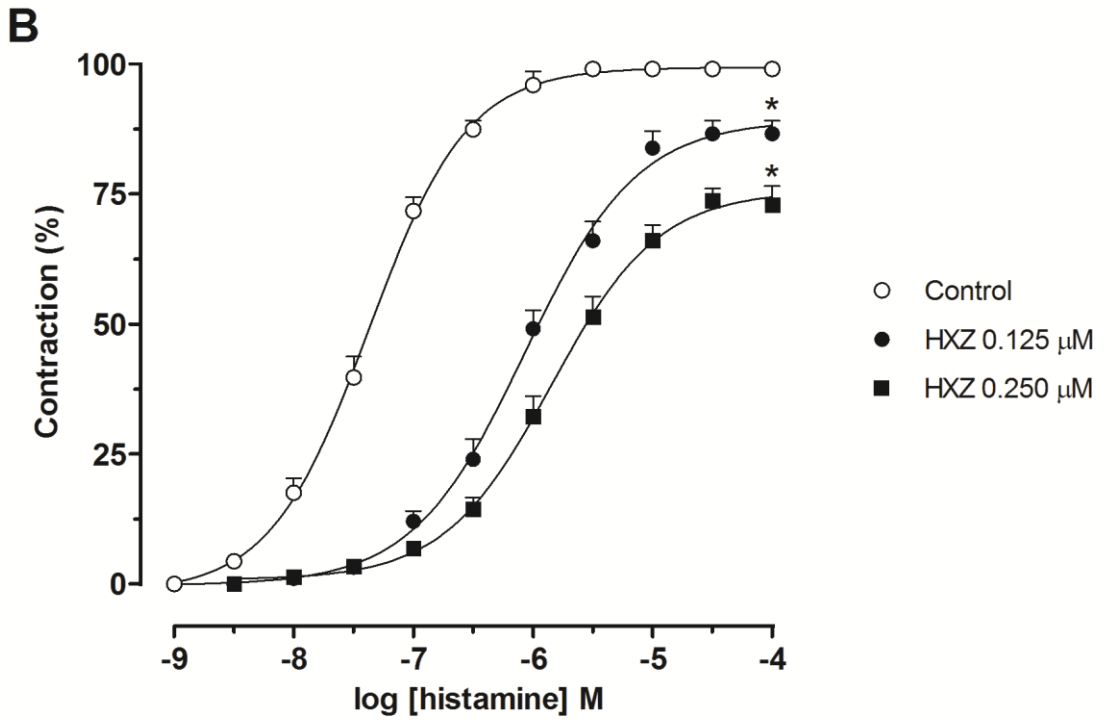
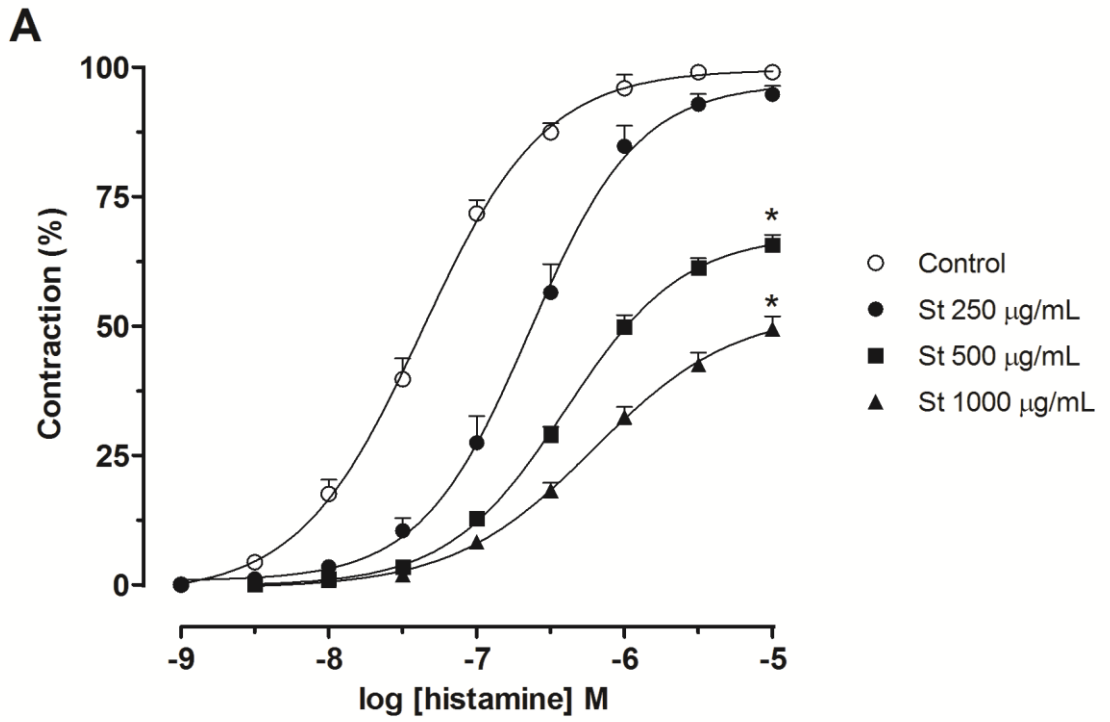


Figure 4. Effect of verapamil (VER) on the contractions induced by 1 μ M histamine (A), 1 μ M carbachol (B) and 40 mM KCl (C) in isolated guinea pig ileum (n = 6). Columns and vertical bars represent the mean $\pm$ S.E.M., respectively. *Statistically different from control (Student's t-test, p < 0.05).



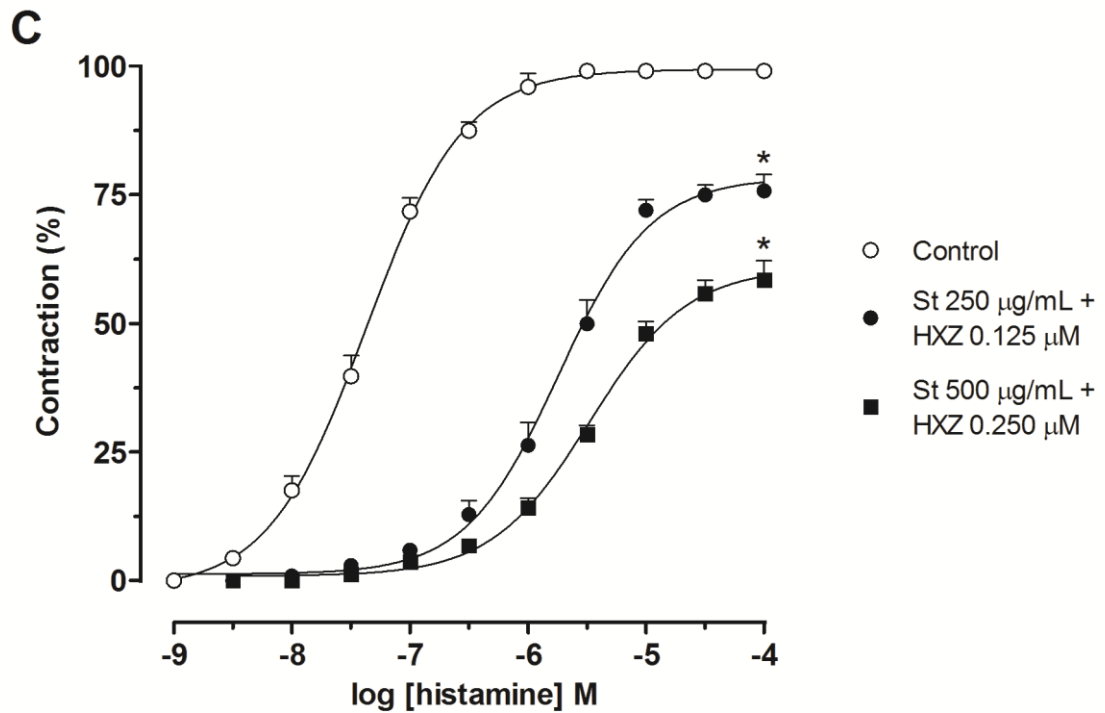


Figure 5. Cumulative concentration-effect curve to histamine in the absence (○) and presence of *Schinus terebinthifolius* bark extract (A): 250 (●), 500 (■) and 1000 µg/mL (▲); hydroxyzine (B): 0.125 (●) and 0.250 µM (■); and *Schinus terebinthifolius* + hydroxyzine (C): 250 + 0.125 (●) and 500 µg/mL + 0.250 µM (■). Symbols and vertical bars represent the mean $\pm$ S.E.M., respectively (n = 6). *Statistically different from control (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test, $p < 0.05$).

Table 1. $E_{\max}$ and pEC_{50} values of concentration-effect curves to histamine in the absence and presence of *Schinus terebinthifolius* bark extract, hydroxyzine and their associations

Treatment	$E_{\max}$ (%)	pEC_{50}
Control	99.0 ± 1.4	7.37 ± 0.03
St 250 $\mu\text{g/mL}$	94.7 ± 1.6	$6.64 \pm 0.05^*$
St 500 $\mu\text{g/mL}$	$65.7 \pm 1.9^*$	$6.40 \pm 0.04^*$
St 1000 $\mu\text{g/mL}$	$49.4 \pm 2.5^*$	$6.21 \pm 0.07^*$
HXZ 0.125 μM	$86.6 \pm 2.5^*$	$6.07 \pm 0.05^*$
HXZ 0.250 μM	$72.9 \pm 3.6^*$	$5.85 \pm 0.06^*$
St 250 $\mu\text{g/mL}$ + HXZ 0.125 μM	$75.7 \pm 3.2^*$	$5.75 \pm 0.05^*$
St 500 $\mu\text{g/mL}$ + HXZ 0.250 μM	$58.4 \pm 3.7^*$	$5.48 \pm 0.05^*$

Values represent the mean $\pm$ S.E.M. (n = 6). *Statistically different compared to corresponding control (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test, $p < 0.05$).

Table 2. Effect of the oral administration of *Schinus terebinthifolius* bark extract on paw edema induced by histamine in rats.

Treatment	Dose (mg/kg)	Edema volume (mL) at different time interval				
		0.5 h	1 h	2 h	3 h	4 h
Control	-	0.26 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.47 ± 0.02	0.44 ± 0.03	0.41 ± 0.03
Hydroxyzine	70	0.20 ± 0.01 (23.1%)	0.27 ± 0.01 (56.5%)*	0.15 ± 0.02 (68.1%)*	0.10 ± 0.02 (77.3%)*	0.04 ± 0.01 (90.2%)*
St	100	0.21 ± 0.02 (19.2%)	0.41 ± 0.02 (33.9%)*	0.31 ± 0.02 (34.0%)*	0.24 ± 0.03 (45.5%)*	0.19 ± 0.04 (53.7%)*
	200	0.22 ± 0.02 (15.4%)	0.32 ± 0.03 (48.4%)*	0.24 ± 0.03 (48.9%)*	0.18 ± 0.02 (59.1%)*	0.12 ± 0.02 (70.7%)*
	400	0.18 ± 0.03 (30.8%)	0.28 ± 0.01 (54.8%)*	0.17 ± 0.02 (63.8%)*	0.06 ± 0.01 (86.4%)*	0.02 ± 0.01 (95.1%)*

Values represent the mean ± S.E.M. (n = 6). The percent decrease of edema over control values are indicated in parentheses. *Statistically different compared to corresponding control (one-way ANOVA followed by Newman-Keuls test, p < 0.05).

5. Conclusão

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos com o extrato seco da casca de *Schinus terebinthifolius* pôde ser demonstrado:

- Redução específica das contrações induzidas pela histamina em íleo de cobaia e ausência de efeito sobre a amplitude das contrações induzidas por carbacol ou cloreto de potássio;
- Efeito inibitório semelhante ao exercido pela hidroxizina (anti-histamínico H_1), mas não ao verapamil (antagonista dos canais de cálcio) sobre as contrações induzidas pela histamina, carbacol ou cloreto de potássio em íleo de cobaia;
- Deslocamento da curva concentração-efeito da histamina para a direita, de maneira dependente da concentração, com características de antagonismo competitivo e potenciação do efeito anti-histamínico da hidroxizina quando em associação com *S. terebinthifolius*;
- Inibição do edema de pata induzido pela histamina em ratos Wistar.

Deste modo, pode ser sugerido que o extrato da casca de *Schinus terebinthifolius* possui ação anti-histamínica (H_1) evidenciada pelo antagonismo das respostas contráteis em íleo de cobaia e pela inibição do edema de pata, ambos induzidos pela histamina.

Referências

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATIF A. A. Cross talk between cyclic nucleotides and polyphosphoinositide hydrolysis, protein kinases, and contraction in smooth muscle. **Experimental Biology & Medicine**. v. 226, p. 153-163, 2001.

ADKINSON JR., N. F.; BOCHNER, B. S.; BUSSE, W. W.; HOLGATE, S. T.; LEMANSKE JR., R. F.; SIMONS F. E. R. **Middleton's Allergy: principles and practice**. 7 ed. St Louis: Mosby (an affiliate of Elsevier Science), 2009. p. 1517-1548.

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AKDIS, C. A.; BLASER, K. Histamine in the immune regulation of allergic inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 112, p. 15-22, 2003.

AMORIM. M. M. R.; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 25, p. 95-102, 2003.

ARAÚJO, E. L. **Aroeira da praia - Estudo farmacognóstico e da atividade biológica de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae)**. 2002. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

BAKKER, R. A.; SCHOONUS, S. B.; SMIT, M. J.; TIMMERMAN, H.; LEURS, R. Histamine H₁ receptor activation of nuclear factor-kappa B: roles for G beta gamma- and G alpha(q/11)-subunits in constitutive and agonist mediated signaling. **Molecular Pharmacology**. v. 60, p. 1133-1142, 2001.

BAKKER, R. A.; WIELAND, K.; TIMMERMAN, H.; LEURS, R. Constitutive activity of the histamine H₁ receptor reveals inverse agonism of histamine H₁ receptor antagonists. **European Journal of Pharmacology**. v. 387, n. 1, p. R5-R7, 2000.

BARRETT K. E.; BARMAN, S. M.; BOITANO, S.; BROOKS, H. L. **Ganong's Review of Medical Physiology**. 23. ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2010. 726p.

BÓRIO, E. B. L. Contribuição ao estudo farmacognóstico da casca do caule da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) – Anacardiaceae. **Ciência e Cultura**. v. 25, n. 7, p. 631-637, 1973.

BRADDING, P.; WALLS, A. F.; HOLGATE, S. T. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 117, p. 1277-1284, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 48 de 16 de março de 2004. **Registro de Fitoterápicos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 mar. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 971 de 3 de maio de 2006. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 4 maio 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 136p.

BRAZ FILHO, R. Importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas do estudo químico de produtos naturais. In: MORAIS, S. M.; BRAZ FILHO, R. **Produtos naturais: estudos químicos e biológicos**. Fortaleza: UECE, 2007. 238p.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal and Biological Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 100, p. 131-134, 2005.

CAMPELO, J. P.; MARSAIOLI, A. J. Terebenthifolic acid and bauerenone, new triterpenoid ketones from *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. v. 14, n. 10, p. 2300-2302, 1975.

CAMPELO, J. P.; MARSAIOLI, A. J. Triterpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. v. 13, n. 3, p. 659-660, 1974.

CARLINI, E. A.; ALMEIDA, J. M. D.; RODRIGUES, E.; TABACH, R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 20, n. 2, p. 140-146, 2010.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Brasília: EMBRAPA, 1994, 640p.

CAVALCANTE, F. A. **Mecanismo de ação espasmolítica de solavetina, sesquiterpeno isolado das partes aéreas de *Solanum jabrense* Agra & Nee. (Solanaceae).** 2001. 81 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2001.

CAVALHER-MACHADO, S. C.; ROSAS, E. C.; BRITO, F. A.; HERINGE, A. P.; OLIVEIRA, R. R.; KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO, M. R.; HENRIQUES, M. G. M. O. The anti-allergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paw edema and pleurisy. **International Immunopharmacology**. v. 8, p. 1552-1560, 2008.

CERUKS, M.; ROMOFF, P.; FAVERO, O. A.; LAGO, J. H. G. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). **Química Nova**. v. 30, n. 3, p. 597-599, 2007.

CHEN, C.; HANSON, E.; WATSON, J. W.; LEE, J. S. P-glycoprotein limits the brain penetration of nonsedating but not sedating H₁-antagonists. **Drug Metabolism and Disposition**. v. 31, p. 312-318, 2003.

CHILVERS, E. R.; LYNCH, B. J.; CHALLISS, R. A. Phosphoinositide metabolism in airway smooth muscle. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 62, p. 221-245, 1994.

CLEMENTE, A. D. **Composição química e atividade biológica do óleo essencial da pimenta-rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi).** Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p. 125-6, 1978.

COUTINHO, I. H. I. L. S.; TORRES, O. J. M.; MATIAS, J. E. F.; COELHO, J. C. U.; STAHLKE JUNIOR, H. J.; AGULHAM, M. A.; BACHLE, E.; CAMARGO, P. A. M.; PIMENTEL, S. K.; FREITAS, A. C. T. Efeito do extrato hidroalcoólico de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de anastomoses colônicas. Estudo experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21, p. 49-54, 2006.

CRIADO, P. R.; CRIADO, R. F. J.; MARUTA, C. W.; MACHADO FILHO, C. A. Histamine, histamine receptors and antihistamines: new concepts. **The Brazilian Annals of Dermatology**. v. 85, n. 2, p. 195-210, 2010.

CUVILLO, A. del; MULLOL, J.; BARTRA, J.; DAVILA, I.; JAUREGUI, I.; MONTORO, J.; SASTRE, J.; VALERO, A. L. Comparative pharmacology of the H₁-antihistamines. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**. v. 16, p. 3-12, 2006. Supplement 1.

DEGÁSPARI, C. H. **Propriedades antioxidantes e antimicrobianas dos frutos da aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi)**. 2004. 104 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

DEVEREUX, G. The increase in the prevalence of asthma and allergy: food for thought. **Nature Reviews Immunology**, v. 6, p. 869-874, 2006.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. p. 109-126.

DUNSKY, E. H.; GOLDSTEIN, M. F.; DVORIN, D. J.; BELECANECH, G. A.; HARALABATOS, I. C.; GORDON, N. D.; MODAY, H.J. **Understanding Sinusitis and Allergy**: the asma center education and research fund manual. 2006. Disponível em: < <http://www.webbkampanj.com/asthmacenter/sinusitis/> > Acesso em: 05 jul 2012.

DY, M.; SCHNEIDER, E. Histamine-cytokine connection in immunity and hematopoiesis. **Cytokine & Growth Factor Reviews**. v. 15, p. 393-410, 2004.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 369-394, 2006.

FERREIRA, M. A. R. Inflammation in allergic asthma: initiating events, immunological response and risk factors. **Respirology**. v. 9, p. 16-24, 2004.

FERRITER, A. Brazilian pepper management plan for Florida In: **Recommendations from the brazilian pepper task force Florida exotic pest plant council**, 1997.

GHAYUR, M. N.; KHAN, H.; GILANI, A. H. Antispasmodic, bronchodilator and vasodilator activities of (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. **Archives of Pharmacological Research**. v. 30, p. 970-975, 2007.

GILLARD, M.; BENEDETTI, M. S.; CHATELAIN, P.; BALTES, E. Histamine H₁ receptor occupancy and pharmacodynamics of second generation H₁-antihistamines. **Inflammation Research**. v. 54, p. 367-369, 2005.

GOLIGHTLY, L. K.; GREOS, L. S. Second-generation antihistamines: actions and efficacy in the management of allergic disorders. **Drugs**. v. 65, n. 3, p. 341-384, 2005.

HAAS, H.; PANULA, P. The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 4, p. 121-130, 2003.

HAYASHI, T.; NAGAYAMA, K.; ARISAWA, M.; SHIMIZU, M.; SUZUKI, S.; YOSHIZAKI, M.; MORITA, N. Pentagalloylglucose, a xanthine oxidase inhibitor from a paraguayan crude drug, "molle-I" (*Schinus terebinthifolius*). **Journal of Natural Products**. v. 52, n. 1, p. 210-211, 1989.

HILL, S. J.; GANELIN, C. R.; TIMMERMAN, H.; SCHWARTZ, J. C.; SHANKLEY, N. P.; YOUNG, J. M.; et al. XIII International Union of Pharmacology. Classification of histamine receptors. **Pharmacological Reviews**. v. 49, p. 253-278, 1997.

HIROTA, S.; PERTENS, E.; JANSSEN, L. J. The reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger provides a source of Ca^{2+} for store refilling following agonist-induced Ca^{2+} mobilization. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**. v. 292, p. 438-447, 2007.

HOLGATE, S. T.; POLOSA, R. Treatment strategies for allergy and asthma. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, p. 218-230, 2008.

ICHIKAWA, A.; TANAKA, S. **Histamine Biosynthesis and Function**. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. Disponível em: <<http://www.els.net/WileyCDA/ElsArticle/refId-a0001404.html>>. Acesso em: 18 jun. 2012.

JAIN, M. K.; YU, B. Z.; ROGERS, J. M.; SMITH, A. E.; BOGER, E. T. A.; OSTRANDER, R. L.; RHEINGOLD, A. L. Specific competitive inhibitor of secreted phospholipase A_2 from berries of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. v. 39, p. 537-547, 1995.

JAMAL, Y.; AGUSTA, A. Chemical composition of essential oil *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves. **Majalah Farmasi Indonesia**. v. 12, n. 3, p. 135-139, 2001.

JANSSEN, L. J. Ionic mechanisms and Ca^{2+} regulation in airway smooth muscle contraction: do the data contradict dogma? **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**. v. 282, p. 1161-1178, 2002.

JOHANN, S.; PIZZOLATTI, M. G.; DONNICI, C. L.; RESENDE, M. A. Antifungal properties of plants used in brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 38, p. 632-637, 2007.

JUTEL M.; BLASER, K.; AKDIS C. A. Histamine in allergic inflammation and immune modulation. **International Archives of Allergy and Immunology**. v. 137, p. 82-92, 2005.

KEMP, S. F.; LOCKEY, R. F. Anaphylaxis: a review of causes and mechanisms. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 110, p. 341-348, 2002.

KHAN, A. U.; KHAN, M.; SUBHAN, F.; GILANI, A. H. Antispasmodic, bronchodilator and blood pressure lowering properties of *Hypericum oblongifolium*: possible mechanism of action. **Phytotherapy Research**. v. 24, p. 1027-1032, 2010.

LAPORTE, R.; HUI, A.; LAHER, I. Pharmacological modulation of sarcoplasmic reticulum function in smooth muscle. **Pharmacological Reviews**. v. 56, p. 439-513, 2004.

LARSSON, A. K.; HAGFJÄRD, A.; DAHLEN, S. E.; ADNER, M. Prostaglandin D₂ induces contractions through activation of TP receptors in peripheral lung tissue from the guinea pig. **European Journal of Pharmacology**. v. 669, p. 136-142, 2011.

LAWRENCE, B. M. A discussion of *S. molle* and *S. terebinthifolius*. **Perfumer & Flavorist**. v. 9, n. 5, p. 65-69, 1984.

LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**. v. 17, n. 2, p. 67-89, 2004.

LEURS, R.; CHURCH, M. K.; TAGLIALATELA, M. H₁-antihistamines: inverse agonism, anti-inflammatory actions and cardiac effects. **Clinical & Experimental Allergy**. v. 32, n. 4, p. 489-498, 2002.

LEURS, R.; SMIT, M. J.; TIMMERMAN, H. Molecular pharmacological aspects of histamine receptors. **Pharmacology & Therapeutics**. v. 66, p. 413-463, 1995.

LIMA, L. B.; VASCONCELOS, C. F. B.; MARANHÃO, H. M. L.; LEITE, V. R.; FERREIRA, P. A.; ANDRADE, B. A.; ARAUJO, E. L.; XAVIER, H. S.; LAFAYETTE, S. S. L.; WANDERLEY, A. G. Acute and subacute toxicity of *Schinus terebinthifolius* bark extract. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 126, p. 468-473, 2009.

LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; GENET, J. P.; MÁRQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 105, p. 137-147, 2006.

LLOYD, H. A.; JAOUNI, T. M.; EVANS, S. L.; MORTON, J. F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**. v. 16, n.8, p. 1301-1302, 1977.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. v.1. 368p.

LUCENA, P. L. H.; RIBAS FILHO, J. M.; MAZZA, M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.; CORREA NETO, M. A.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; CESCHIN, A. P.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21, p. 44-49, 2006. Suplemento 2.

MACGLASHAN JR., D. Histamine: a mediator of inflammation. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 112, p. S53-S59, 2003. Supplement 4.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAHDY, A. M.; WEBSTER, N. R. Histamine and antihistamines. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**. v. 12, n. 7, p. 324-329, 2011.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Human Anatomy & Physiology**. 7. ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2007. 1159p.

MARTINEZ, M. J.; BARREIRO, M. L.; RODRIGUEZ, Z. M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de um extrato fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. v. 5, n. 1, p. 23-25, 2000.

MARTINEZ, M. J.; BETANCOURT, J.; ALONSO-GONZÁLEZ, N.; JAUREGUI, A. Screening of Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 52, p. 171-174, 1996.

MEDINA, M. A.; FIZ, F. C.; CASO, C. R.; JIMÉNEZ, F. S. A comprehensive view of polyamine and histamine metabolism to the light of new technologies. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**. v. 9, n. 4, p. 854-864, 2005.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANALLI, M. O.; CHAUD, M. V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 15, p. 316-320, 2005.

MOURELLE, J. A. F.; CAO, M. C. F. L.; RODRÍGUEZ, F. M.; GUTIÉRREZ, Z. P. Actividad antiinflamatoria del *Schinus terebinthifolius*, (copal) en ratas. **Revista Cubana de Farmacia**. v. 27, n. 2, p. 139-144, 1993.

NATIVIDAD, G. M.; BROADLEY, K. J.; KARIUKI, B.; KIDD, E. J.; FORD, W. R.; SIMONS, C. Actions of *Artemisia vulgaris* extracts and isolated sesquiterpene lactones against receptors mediating contraction of guinea pig ileum and trachea. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 137, p. 808-816, 2011.

NIJMEIJER, S.; LEURS, R.; VISCHER, H. F. Constitutive activity of the histamine H₁ receptor. **Methods in Enzymology**. v. 484, p. 127-147, 2010.

NOGUEIRA, C. M. D.; MORAIS, N. M. T.; LOPES, M. F. G.; SÁ, M. J. H. C. Análises químicas em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 77, p. 5-6, 1996.

PARSONS, M. E.; GANELLIN, C. R. Histamine and its receptors. **British Journal of Pharmacology**. v. 147, p. S127-S135, 2006. Supplement 1.

PIERIBATTEST, J. C.; CONAN, J. Y.; GRODIN, J.; VICENT, E. J.; GUERERE, M. Contribution a l'étude chimique des baies roses de bourbon. **Annales des falsifications de L'expertise et Toxicologique**. v. 74, p. 11-16, 1981.

PIRES, O. C.; TAQUEMASA, A. V. C.; AKISUE, G.; OLIVEIRA, F.; ARAÚJO, C. E. P. Análise preliminar da toxicidade aguda e dose letal mediana (DL₅₀) comparativa entre os frutos de Pimenta do Reino do Brasil (*Schinus terebinthifolius* Raddi) e Pimenta do Reino (*Piper nigrum* L.). **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 23, n. 2, p. 176-182, 2004.

PORTAL DA SAÚDE. (www.saude.gov.br). Desenvolvido pelo Ministério da Saúde, Brasil. **O que é RENISUS?** Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30780 >. Acesso em 09 jul. 2012.

QUEIRES, L .C. S.; RODRIGUES, L. E. A. Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 41, n. 2, p. 247-253, 1998.

ROTONDO, A.; SERIO, R.; MULE, F. Gastric relaxation induced by apigenin and quercetin: analysis of the mechanism of action. **Life Sciences**. v. 85, p. 85-90, 2009.

SANTOS, R. F.; MARTINS, I. R. R.; TRAVASSOS, R. A.; TAVARES, J. F.; SILVA, M. S.; PAREDES-GAMERO, E. J.; FERREIRA, A. T.; NOUAILHETAS, V. L. A.; ABOULAFIA, J.; RIGONI, V. L. S.; SILVA, B. A. Ent-7 α -acetoxyltrachyloban-18-oic acid and ent-7 α -hydroxyltrachyloban-18-oic acid from *Xylopia langsdorfiana* A. St-Hil. & Tul. modulate K⁺ and Ca²⁺ channels to reduce cytosolic calcium concentration on guinea pig ileum. **European Journal of Pharmacology**. v. 678, p. 39-47, 2012.

SANTOS, W. O.; REBOUÇAS, L. M. C.; SIQUEIRA, M. M. A.; CARVALHO, D.; ALENCAR, J. W. Estudo químico de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência e Cultura**. v. 38, n. 7, p. 602, 1986.

SAXENA, M.; GAUR, S.; PARTHIPATI, P.; SAXENA, A. K. J. Synthesis of some substituted pyrazinopyridoindoles and 3D QSAR studies along with related compounds: piperazines, piperidines, pyrazinoisoquinolines, and diphenhydramine, and its semi-rigid analogs as antihistamines (H₁). **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 14, p. 8249-8258, 2006.

SCHMOURLO, G.; MENDONÇA FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 96, p. 563-568, 2005.

SCHNEIDER, E.; ROLLI-DERKINDEREN, M.; AROCK, M.; DY, M. Trends in histamine research: new functions during immune responses and hematopoiesis. **Trends in Immunology**. v. 23, p. 255-263, 2002.

SCIPIONI, M. C. *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Herbário do Departamento de Ciências Florestais**. Universidade Federal de Santa Maria. 2011. Disponível em: < http://w3.ufsm.br/herbarioflorestal/especie_detalhes.php?nome_filtrado=aroeira-man_sa_aroeira_vermelha_aroeira_do_campo >. Acesso em: 20 jun. 2012.

SILVA, L. B. L. **Preparação e avaliação biofarmacêuticas de formas semi-sólidas da aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 1999. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.

SILVA, M. C. ; CARVALHO, J. C. T. Plantas Medicinais. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos antiinflamatórios**. Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, 480p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003.

SIMONS, F. E. R. Advances in H₁-antihistamines. **The New England Journal of Medicine**. v. 351, n. 21, p. 2203-2217, 2004.

SIMONS, F. E. R. **Histamine and H₁-antihistamines in allergic disease**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, p. 249-286, 2002.

SIMONS, F. E. R.; SIMONS, K. J. Histamine and H₁-antihistamines: celebrating a century of progress. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 128, p. 1139-1150, 2011.

SINGH, B. B.; KHORSAN, R.; VINJAMURY, S. P.; DER MARTIROSIAN, C.; KIZHAKKEVEETIL, A.; ANDERSON, T. M. Herbal treatments of asthma: a systematic review. **Journal of Asthma**, v. 44, n.9, p. 685-698, 2007.

SPINOSA, H. S.; GÓNIAK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 131-145, 2006.

STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. Cardanol an cutaneous irritant of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Planta Medica**. v. 48, p. 5-9, 1983.

TAUR, D. J.; PATIL, R. Y. Some medicinal plants with antiasthmatic potential: a current status. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v. 1, p. 413-418, 2011.

TOLEDO, A. C.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D. MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Lecta**. V.21, n. ½, p. 7-13, 2003.

TURTOLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42, n. 2, p. 289-306, 2006.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**. v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VELÁZQUEZ, E.; TOURNIER, H. A.; BUSCHIAZZO, P. M.; SAAVEDRA, G.; SCHINELLA, G. R. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. **Fitoterapia**. v. 74, p. 91-97, 2003.

VIANA, A. F.; HECKLER, A. P. M.; POSER, G. L. V.; LANGELOH, A.; RATES, S. M. K. Efeito de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schltdl. (Guttiferae) sobre contrações em íleo isolado de cobaio induzidas por diferentes agonistas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 3, p. 378-383, 2007.

WANG, E. J.; CASCIANO, C. N.; CLEMENT, R. P.; JOHNSON, W. W. Evaluation of the interaction of loratadine and desloratadine with P-glycoprotein. **Drug Metabolism and Disposition**. v. 29, p. 1080-1083, 2001.

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**. v. 27, p. 201-206, 2003.

WRAY, S.; BURDYGA, T.; NOBLE, K.; Calcium signalling in smooth muscle. **Cell Calcium**. v. 38, p. 397-407, 2005.