

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Informações Sistematizadas
da Relação Nacional de

PLANTAS MEDICINAIS

DE INTERESSE AO SUS



RUTA GRAVEOLENS L., RUTACEAE – ARRUDA

Brasília – DF
2021

MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde
Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos

Informações Sistematizadas
da Relação Nacional de

PLANTAS MEDICINAIS

DE INTERESSE AO SUS



RUTA GRAVEOLENS L., RUTACEAE – ARRUDA

Brasília – DF
2021

2021 Ministério da Saúde.



Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada, na íntegra, na Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde: bvsms.saude.gov.br. O conteúdo desta e de outras obras da Editora do Ministério da Saúde pode ser acessado na página: <http://editora.saude.gov.br>.

Tiragem: 1ª edição – 2021 – versão eletrônica

Elaboração, distribuição e informações:
MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação
e Insumos Estratégicos em Saúde
Departamento de Assistência Farmacêutica
e Insumos Estratégicos
Coordenação-Geral de Assistência
Farmacêutica Básica
Esplanada dos Ministérios, bloco
G, Edifício Sede, sobreloja
CEP: 70058-900 – Brasília/DF
Tels.: (61) 3315-7881 / 3315-8816
Site: www.saude.gov.br/fitoterapicos
E-mail: fitodaf@saude.gov.br

Coordenação do trabalho:
Benilson Beloti Barreto
Clarissa Giesel Heldwein
Daniel César Nunes Cardoso
Katia Regina Torres
Letícia Mendes Ricardo

Elaboração:
Celso Acácio Rodrigues de Almeida Costa

Foto da capa:
Daniel César Nunes Cardoso

*Política e Programa Nacional de Plantas
Medicinais e Fitoterápicos*
Equipe Ministério da Saúde:
Benilson Beloti Barreto
Daniel César Nunes Cardoso
Daniella Magalhães de Carrara
Ediane de Assis Bastos
Sandra de Castro Barros

Editora responsável:
MINISTÉRIO DA SAÚDE
Secretaria-Executiva
Subsecretaria de Assuntos Administrativos
Coordenação-Geral de Documentação e Informação
Coordenação de Gestão Editorial
SIA, Trecho 4, lotes 540/610
CEP: 71200-040 – Brasília/DF
Tels.: (61) 3315-7790 / 3315-7794
Site: <http://editora.saude.gov.br>
E-mail: editora.ms@saude.gov.br

Equipe editorial:
Normalização: Delano de Aquino Silva
Revisão: Khamila Silva
Capa, projeto gráfico e diagramação: Renato Carvalho

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde.
Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos.

Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS : *Ruta graveolens* L. (Arruda) [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2021.

76 p. : il.

Modo de acesso: World Wide Web: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/informacoes_sistematizadas_relacao_ruta_graveolens.pdf
ISBN 978-85-334-2884-3

1. *Ruta graveolens*. 2. Plantas medicinais e fitoterápicos. 3. Sistema Único de Saúde (SUS). I. Título.

CDU 633.88

Catálogo na fonte – Coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS – OS 2020/0064

Título para indexação:

Systematized Information on the National List of Medicinal Plants of Interest to SUS: *Ruta graveolens* L. (Arruda)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fotos da espécie <i>Ruta graveolens</i> L.	9
Figura 2 – Ilustração das estruturas da espécie <i>R. graveolens</i>	14
Figura 3 – Estruturas macro e microscópicas das espécies <i>R. graveolens</i> e <i>R. chalepensis</i> – (A) Flor e (B) Fruto da <i>R. graveolens</i> ; (C) Flor e (D) Fruto da <i>R. chalepensis</i> ; (E) Caule, (F) Pecíolo e (G) Folha de <i>R. graveolens</i>	16
Figura 4 – Estrutura química e peso molecular das quatro principais furanocumarinas presentes na <i>R. graveolens</i>	22
Figura 5 – Jean-Baptiste Debret: o vendedor de arruda	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tipos de derivado vegetal e seus componentes químicos descritos	25
Tabela 2 – Ensaio de toxicidade subcrônica de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	31
Tabela 3 – Ensaio de toxicidade <i>in vitro</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	33
Tabela 4 – Estudos farmacológicos <i>in vitro</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	34
Tabela 5 – Estudos farmacológicos <i>in vivo</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	43
Tabela 6 – Ensaio <i>ex vivo</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	51
Tabela 7 – Patentes selecionadas da espécie <i>R. graveolens</i> que apresentaram aplicabilidade médica	59

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE	Acetilcolinesterase
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATCI	Iodeto de acetiltiocolina
BuChE	Buríticolinesterase
CC₅₀	Concentração Citotóxica 50%
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COX	Ciclooxygenase
DL₅₀	Dose letal 50%
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DTNB	Ácido ditio-bis-nitrobenzóico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
H₂SO₄	Ácido sulfúrico
hCG	Gonadotrofina coriônica humana
HCl	Ácido clorídrico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Aficiência
LC₅₀	Concentração letal 50%
LOX	Lipooxygenase
m/m	Massa/massa
MAO	Monoaminoxidase
MPLC	Cromatografia Líquida de Média Pressão
MTT	<i>(3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)</i>
NH₄OH	Hidróxido de amônio
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO⁻	Peroxinitrito
PBS	Tampão Fosfato Salino
UI	Unidades Internacionais
v/v	Volume/volume

SUMÁRIO

1 IDENTIFICAÇÃO	8
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA.....	9
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA.....	9
1.3 FAMÍLIA	9
1.4 FOTO DA PLANTA	9
1.5 NOMENCLATURA POPULAR	10
1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	10
1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS	10
2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	12
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL	13
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	13
2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	14
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES.....	15
3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE	18
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL	19
3.1.1 Caracteres organolépticos.....	19
3.1.2 Requisitos de pureza	19
3.1.3 Granulometria	20
3.1.4 Prospeção fitoquímica.....	20
3.1.5 Testes físico-químicos	20
3.1.6 Testes de identificação.....	21
3.1.7 Testes de quantificação.....	21
3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade	22
3.2 DERIVADO VEGETAL	22
3.2.1 Descrição	22
3.2.2 Método de obtenção	23
3.2.3 Caracteres organolépticos.....	23
3.2.4 Requisitos de pureza	23
3.2.5 Testes físico-químicos	24
3.2.6 Prospeção fitoquímica.....	24
3.2.7 Testes de identificação.....	24
3.2.8 Testes de quantificação.....	24

3.3	PRODUTO FINAL	27
3.3.1	Forma farmacêutica	27
3.3.2	Testes específicos por forma farmacêutica	27
3.3.3	Requisitos de pureza	27
3.3.4	Resíduos químicos	27
3.3.5	Prospecção fitoquímica	27
3.3.6	Testes de identificação	27
3.3.7	Testes de quantificação	27
4	INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA	28
4.1	USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS	29
4.2	PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS	29
4.3	ESTUDOS NÃO CLÍNICOS	30
4.3.1	Estudos toxicológicos	30
4.3.2	Estudos farmacológicos	34
4.4	ESTUDOS CLÍNICOS	52
4.4.1	Fase I	52
4.4.2	Fase II	52
4.4.3	Fase III	52
4.4.4	Fase IV	52
4.4.5	Estudos observacionais	52
4.5	RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO	52
4.5.1	Vias de administração	52
4.5.2	Dose diária	53
4.5.3	Posologia (dose e intervalo)	53
4.5.4	Período de utilização	53
4.5.5	Contraindicações	53
4.5.6	Grupos de risco	53
4.5.7	Precauções de uso	54
4.5.8	Efeitos adversos relatados	54
4.5.9	Interações medicamentosas	54
4.5.10	Informações de superdosagem	54
5	INFORMAÇÕES GERAIS	56
5.1	FORMAS FARMACÊUTICAS / FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA	57
5.2	PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS	57
5.3	EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	57
5.4	ROTULAGEM	57
5.5	MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS	57
5.6	PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL	58
5.7	DIVERSOS	60
	REFERÊNCIAS	62





1

IDENTIFICAÇÃO

■ 1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA

Ruta graveolens L.^{1,2}

■ 1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA

Ruta hortensis Mill.^{1,2}

■ 1.3 FAMÍLIA

Rutaceae.^{1,2}

A família *Rutaceae* consiste em mais de 1.600 espécies diferentes de arbustos e pequenas árvores, distribuídas em aproximadamente 150 gêneros, que crescem principalmente em países de climas tropicais, subtropicais e temperados sendo que, no Brasil, são descritos 33 gêneros e aproximadamente 192 espécies.^{1,3}

■ 1.4 FOTO DA PLANTA

Figura 1 – Fotos da espécie *Ruta graveolens* L.



Fonte: Tropicos.org (A) e Wouter Bleeker – UBC Botanical Garden and Centre for Plant Research (B)
(<http://www.botanicalgarden.ubc.ca/potd/2012/06/ruta-graveolens.php>).

■ 1.5 NOMENCLATURA POPULAR

A espécie apresenta uma série de nomes populares nas diferentes regiões do Brasil: Arruda, arruda-fedorenta, ruta-de-cheiro-forte, arruda-aromática, arruda-do-povo, ruda, ruta-fedorenta, arruda-macho, arruda-fêmea, erva-arruda, arruda-doméstica e arruda-dos-jardins.^{2,3} Em outros países ao redor do mundo, onde a planta está amplamente distribuída, é conhecida popularmente como: Rue, Ruda – em espanhol, Common Rue, Herb of grace, Herbygrass – em inglês, Rue fetide, Herbe de grace – em francês, Henruda – em japonês, Ruca, Rute – em italiano, Sadab, Satab, Sudaab, Seerpatchilai – em hindi, Sodab – em iraniano, Wynruit, Binnewortel – em africânder, Aruda, Aruvadam – em cingalês.⁴⁻¹¹

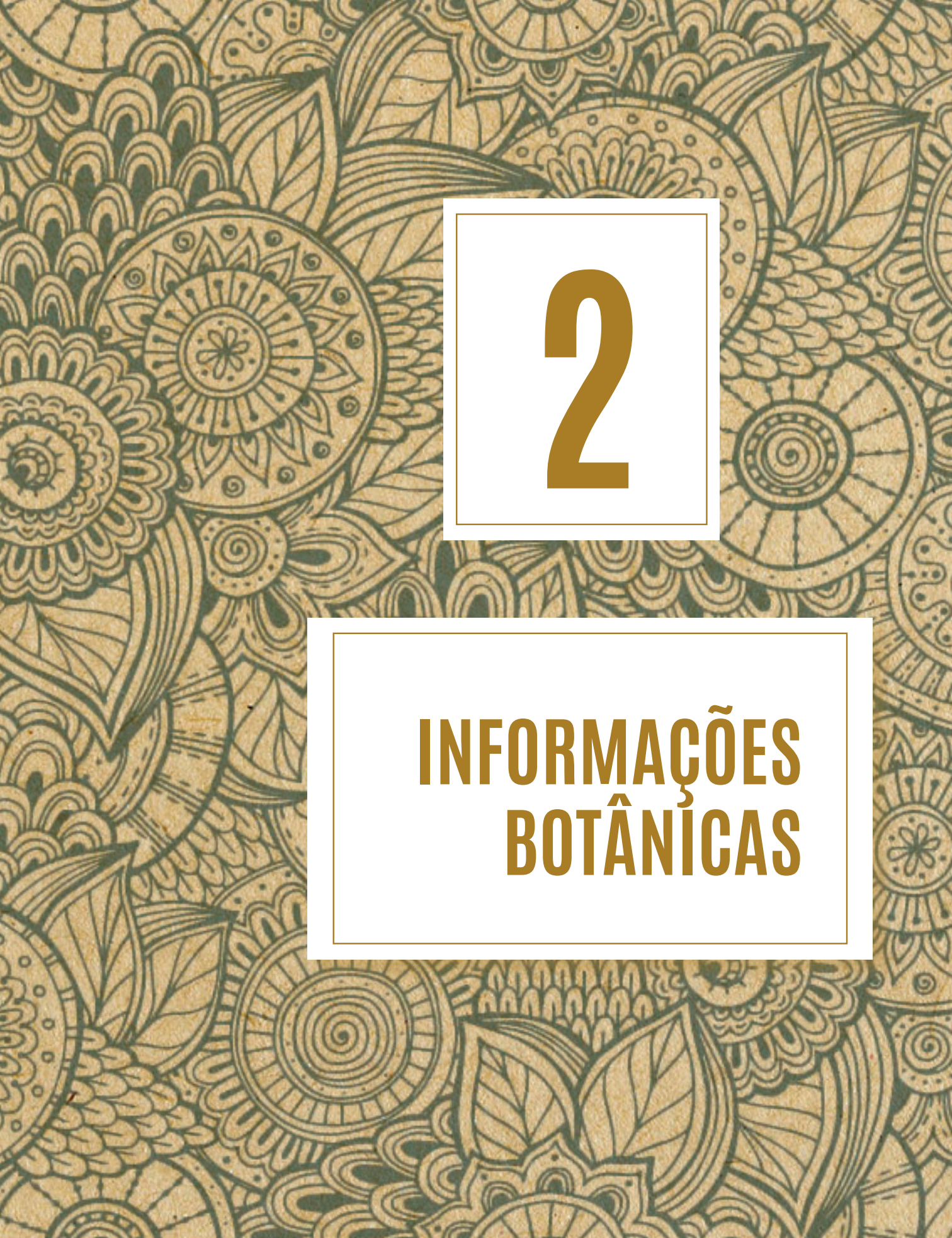
■ 1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A planta é originária da região mediterrânea – sul da Europa, norte da África e extremo oeste da Ásia ou Ásia menor. A planta é empregada com finalidades medicinais e se encontra amplamente distribuída em várias regiões do globo, principalmente Europa, África, América tropical, Ásia (China, Japão e Índia) e Austrália.^{2,4,12}

■ 1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS

Existem cinco espécies correlatas, também denominadas de variedades do gênero *Ruta*: *R. chalepensis*, *R. angustifolia*, *R. montana*, *R. tuberculata* e *R. pinnata*.^{4,12-16}





2

**INFORMAÇÕES
BOTÂNICAS**

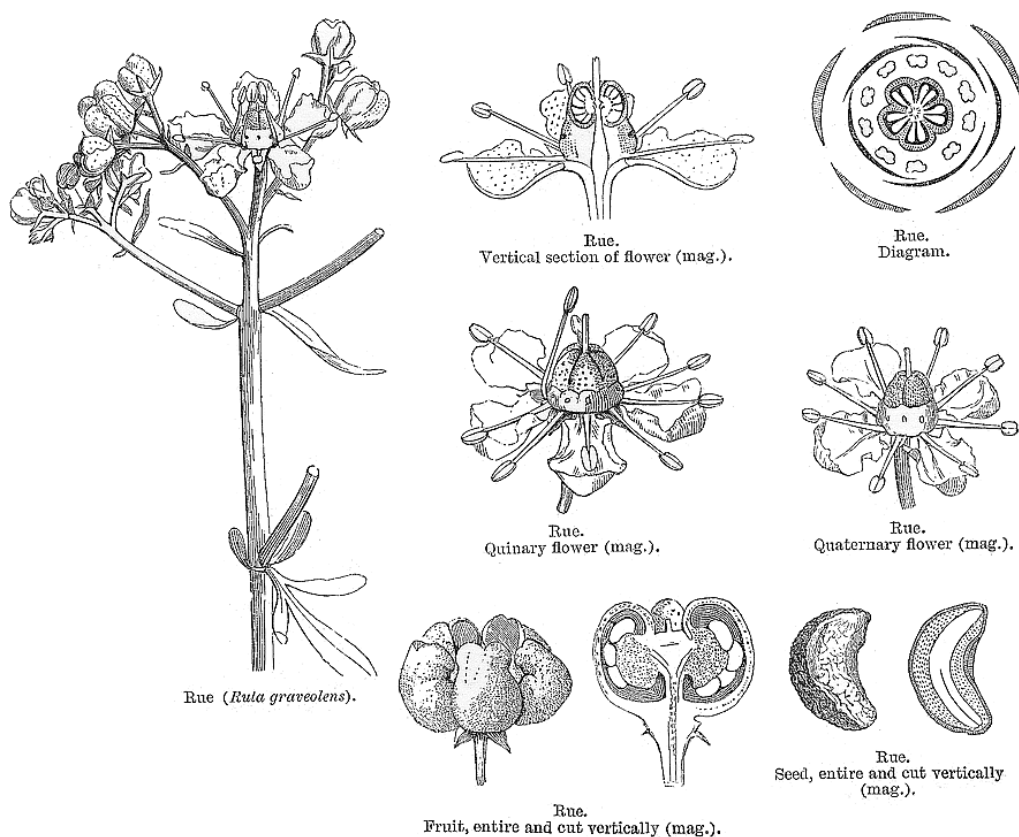
■ 2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL

Todas as partes da planta são utilizadas: raízes, caules, folhas, flores e frutos. Os princípios ativos estão em maior concentração nas folhas e caules antes do período da floração.^{1,12}

■ 2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

A planta, ilustrada na Figura 2, é considerada um subarbusto perenifólio com caule de meio a 1 m de altura. Apresenta-se com vários talos de aproximadamente 60 cm e caules com ramificações finas. Suas folhas, de 12 a 15 mm de comprimento, são alternadas, pecioladas, tripinatifidas, sem estípulas, glabras e cobertas por glândulas oleíferas que exalam forte odor balsâmico característico. Os folíolos são oblongos e os terminais são trasovados. As folhas superiores são pinadas, de contorno triangular, obtusocrenadas, subcoriáceas, de cor azul-esverdeada. Suas flores possuem coloração amarelo-esverdeada, em corimbos terminais, hermafroditas com pétalas livres entre si, pedunculadas, lanceoladas e com pequena bráctea. Apresenta folículo oblongo, ovário súpero com mais de um óvulo, fruto capsular com quatro ou cinco lobos arredondados e sementes rugosas e pardas.¹⁷⁻¹⁹ Os frutos são secos, duros, arredondados, e com 4-5 lóbulos embotados na parte superior.⁴

Figura 2 – Ilustração das estruturas da espécie *R. graveolens*



Fonte: DELTA – DEscription Language for Taxonomy (<http://delta-intkey.com/>).

■ 2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA

A espécie *R. graveolens* apresenta epiderme externa seguida de hipoderme, córtex, zona central e vascular medula. A epiderme e a hipoderme são únicas e em camadas. O córtex é diferenciado no exterior por algumas camadas de clorênquima e parênquima interior. O clorênquima é vagamente organizado como aerênquima, contendo grande quantidade de espaços aéreos. O parênquima é normal com espaços intercelulares. O periciclo é feito de manchas com fibras lignificadas e o lúmen das fibras é claramente visível. Os vasos condutores, floema e xilema, mostram elementos habituais. A medula é grande, parenquimatosa e indiferenciada.⁴

As folhas de *R. graveolens* são glabras e apresentam, em vista frontal, células epidérmicas sinuosas. Os estômatos são ladeados por três ou quatro células irregulares, sendo raros na face superior e abundantes na face inferior. O mesófilo é heterogêneo assimétrico, constituído por duas camadas de células paliçádicas na parte superior e por duas ou três fileiras de parênquima esponjoso na parte inferior. As duas zonas apresentam nódulos secretores esquisolisigênicos e o parênquima lacunoso pode conter drusas de oxalato de cálcio. A nervura mediana é biconvexa, o feixe vascular possui formato elíptico e ocorre aposto ao floema, cujas células são poligonais e de paredes pouco espessas. O pecíolo mostra de 3-5 feixes vasculares em um arco. O feixe vascular é envolvido por um tecido fundamental, que também contém nódulos secretores.^{4,20}

■ 2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES

A adulteração de plantas medicinais a partir de outras espécies de plantas, detentoras de semelhanças morfológicas, é um problema comum. A adulteração desses produtos pode ser intencional ou não intencional, em qualquer fase dos materiais vegetais.¹⁵

Os dados da literatura demonstram que existem, principalmente, cinco espécies correlatas que podem ser confundidas e utilizadas, intencionalmente ou não, como adulterantes. As três espécies mais difundidas *R. chalepensis*, *R. graveolens* e *R. montana* têm padrões de distribuição geográfica parcialmente sobrepostas, são morfológicamente pouco diferenciadas e provavelmente foram utilizadas como sinônimas durante a antiguidade.¹⁶

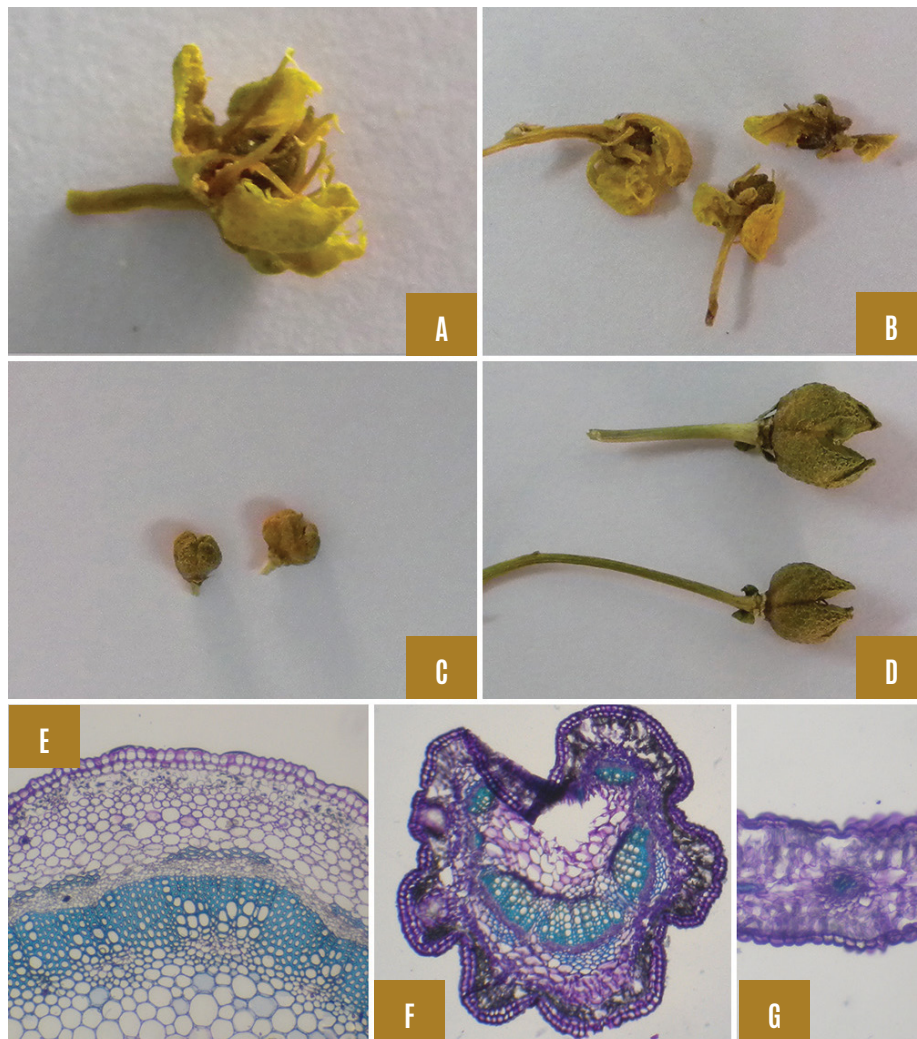
A taxonomia do gênero *Ruta* baseia-se na morfologia floral (Figura 3), e os fatores que delimitam cada espécie não são totalmente conhecidos, porém são objetos de estudos continuados.¹⁶

A *R. chalepensis* trata-se de uma variedade oriunda do Mediterrâneo e é muito cultivada na América Tropical. Apresenta um aspecto terapêutico muito semelhante ao da espécie *R. graveolens*, porém sua composição química difere um pouco. É caracterizada por suas pétalas com franjas e brácteas muito maiores do que a haste ao qual elas estão ligadas.^{12,21}

A *R. montana* diferencia-se das outras espécies clássicas por ter folhas divididas em segmentos muito estreitos, flores pequenas e um aroma muito mais forte devido a uma maior quantidade de óleo essencial.^{12,21}

A *R. angustifolia* é caracterizada por suas folhas ovais, divididas em segmentos e sépalas ciliadas e com franjas. A *R. tuberculata* é caracterizada por suas folhas lanceoladas ou muitas vezes alongadas e pequenas flores com quatro pétalas amarelas. Por fim, a *R. pinnata* cresce endemicamente nas Ilhas Canárias e caracteriza-se por não ter alcaloides e ser a variedade mais rica em cumarinas.^{12,21}

Figura 3 – Estruturas macro e microscópicas das espécies *R. graveolens* e *R. chalepensis* – (A) Flor e (B) Fruto da *R. graveolens*; (C) Flor e (D) Fruto da *R. chalepensis*; (E) Caule, (F) Pecíolo e (G) Folha de *R. graveolens*⁴





The background of the entire page is a dense, intricate mandala pattern. It features a variety of geometric and organic shapes, including circles, triangles, and leaf-like motifs, all rendered in a dark brown or black line-art style on a light tan or beige background. The pattern is highly detailed and covers the entire surface.

3

**INFORMAÇÕES
DE CONTROLE
DE QUALIDADE**

■ 3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL

3.1.1 Caracteres organolépticos

A planta é considerada extremamente aromática e com odor característico, por vezes sendo considerada de odor ameno e agradável.⁴ O pó tem cor verde-azulada, tornando-se acinzentado por dessecação, sabor excessivamente amargo e acre, além de odor pungente.^{18,22}

3.1.2 Requisitos de pureza

3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.1.2.2 Microbiológico

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.1.2.3 Teor de umidade

O teor de umidade é medido por diferença de peso de acordo com padrões farmacopeicos. O método mais simples e rápido, chamado de gravimétrico (dessecação), não é aplicável quando a droga contém substâncias voláteis. Para a determinação, uma quantidade conhecida de amostra (2 a 5 g), ou o especificado na monografia, é submetida à temperatura elevada (100-105°C) durante 5 horas, até a obtenção de peso constante.²³

Segundo o trabalho de Reis,¹⁸ onde as análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em % (m/m), observou-se um resultando contrastante dos de Alves e Santos,²⁴ os quais obtiveram teor de umidade de 72,50% ± 0,59% (m/m) em amostras de folhas de *R. graveolens*.

3.1.2.4 Metal pesado

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.1.2.5 Resíduos químicos

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.1.2.6 Cinzas

As cinzas totais incluem cinzas fisiológicas e cinzas não fisiológicas.²³ O trabalho de Reis¹⁸ seguiu a metodologia da Farmacopeia Brasileira, onde foram pesados 3 g da amostra em balança analítica e posteriormente foram transferidos para um cadinho previamente calcinado em mufla a 450°C. Após distribuição uniforme, o

material vegetal foi incinerado à temperatura de 450°C, durante um período de 4 horas, sequencialmente resfriada em dessecador e, por fim, novamente pesada. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados médios expressos em % (m/m). O teor de cinzas totais encontrado foi de 5,69% $\pm$ 0,10% (m/m), resultado semelhante ao encontrado por Nazish e colaboradores²² de 8,13% (m/m) para as partes aéreas de *R. graveolens*.

3.1.3 Granulometria

A análise granulométrica influencia diretamente na eficiência do processo extrativo.²³ De acordo com metodologia empregada por Reis,¹⁸ 25 g do pó vegetal foram pesados e colocados sobre tamises de aço inox empilhados, previamente pesados, de malhas 355, 300, 250, 180, 150 e 106 mesh, providos de tampa e recipiente para a coleta do pó. O conjunto de peneiras foi submetido a vibrações com velocidade padronizada por 20 minutos em agitador eletromagnético para tamises redondos para análises granulométricas. Após o procedimento, os tamises, com frações de pó retidas, foram pesados separadamente. Posteriormente, o percentual dos pós foi calculado em relação a cada tamis e o pó foi classificado de acordo com os parâmetros estabelecidos na Farmacopeia.²³ Os resultados demonstraram que as partículas passaram em grande quantidade pelo tamis com abertura nominal de malha 150 μ m e pelo tamis de malha 106 μ m, caracterizando-o como pó finíssimo, de acordo com a *Farmacopeia Brasileira*.²³

3.1.4 Prospecção fitoquímica

Os testes de triagem, qualitativos ou semiquantitativos, utilizam reagentes de detecção específicos para evidenciar a presença de grupos funcionais característicos na matéria-prima vegetal. A prospecção fitoquímica realizada por Nazish e colaboradores,²² em diferentes tipos de extratos das partes aéreas de *R. graveolens*, indicou a presença de várias classes de constituintes químicos: alcaloides, aminoácidos, flavonoides, carboidratos, fenóis, esteroides, resinas, proteínas, taninos, glicosídeos e mucilagem. A única classe de substâncias não detectada para os diferentes tipos de extrato foram as saponinas.²²

3.1.5 Testes físico-químicos

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.1.6 Testes de identificação

O emprego de testes qualitativos com a utilização de métodos cromatográficos ou espectroscópicos são ferramentas importantes para detectar a presença de substâncias presentes na droga vegetal, pois se baseiam nos constituintes químicos característicos da espécie e exigem conhecimentos fitoquímicos prévios.²⁵

No levantamento bibliográfico, os trabalhos avaliados realizaram uma série de testes de identificação, por meio de: métodos espectroscópicos, Cromatografia em Camada Delgada ou Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) de fase reversa.^{13,22,26}

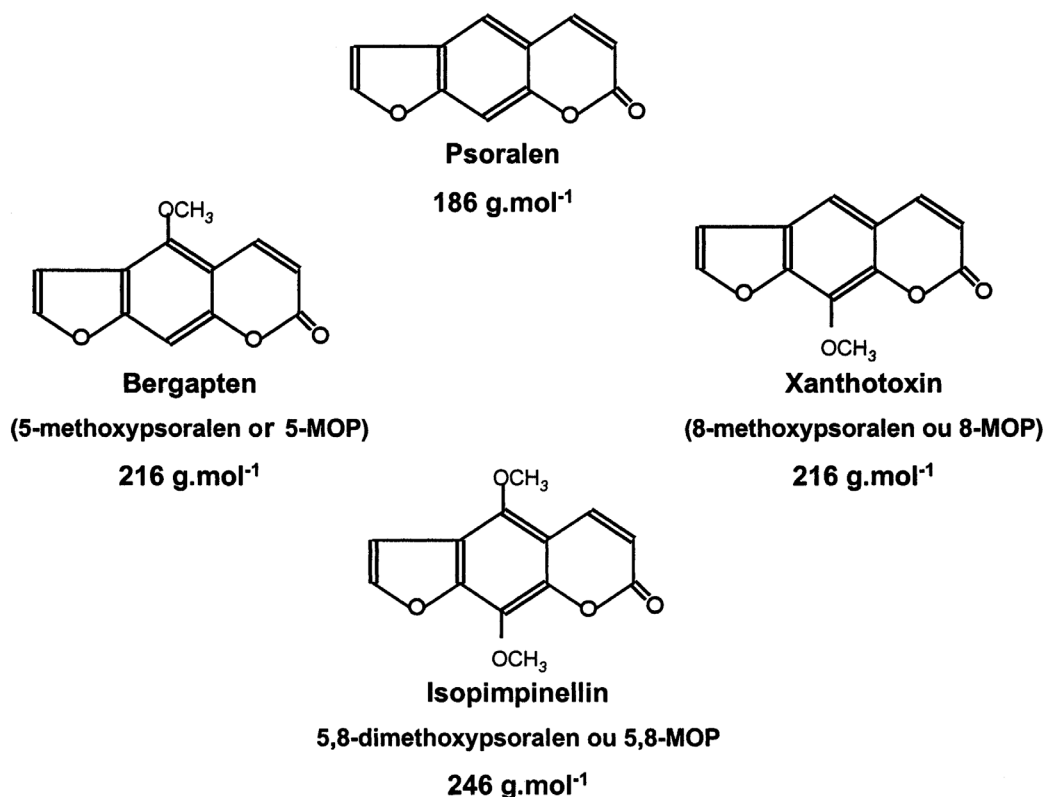
No trabalho realizado por Reis,¹⁸ cerca de 1 g do pó das folhas foi submetido à extração com 25 mL de metanol por 30 minutos em banho de ultrassom. Alíquotas desse extrato e dos padrões de psoraleno e bergapteno (Sigma Aldrich®) foram aplicadas a uma das extremidades de uma placa cromatográfica de alumínio impregnada com sílica gel 60F254 (Merck®). A placa cromatográfica foi colocada em cuba própria para cromatografia com fase móvel constituída de diclorometano e éter etílico (1:1,5 v/v) e acidificada com 2 mL de ácido acético. Após a eluição, a placa foi seca à temperatura ambiente, seguindo-se à visualização das bandas em câmara de UV (Spectroline®) sob luz ultravioleta a 365 nm. A análise foi realizada por comparação do valor do fator de retenção (Rf) das bandas dos padrões com a banda da amostra. Os resultados do trabalho demonstraram a presença de psoraleno (Rf de 0,84) e bergapteno (Rf de 0,80), resultado corroborado pelo trabalho de Ramos,²⁷ que também demonstrou a presença de psoraleno em amostras de *R. graveolens*.

3.1.7 Testes de quantificação

3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Os principais constituintes químicos descritos para a espécie vegetal foram: Furanocumarinas (Figura 4) – psoraleno, xantotoxina, bergapteno e isopimpinellina;¹³ Derivados cumarínicos – naftoherniarina;²⁶ alcaloides, aminoácidos, flavonoides, carboidratos, fenóis, esteroides, resinas, proteínas, taninos, glicosídeos e mucilagem.²²

Figura 4 – Estrutura química e peso molecular das quatro principais furanocumarinas presentes na *R. graveolens*¹³



3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade

Informação não descrita na literatura pesquisada.

■ 3.2 DERIVADO VEGETAL

3.2.1 Descrição

Não há descrição para os derivados vegetais da espécie *R. graveolens* em monografias da Organização Mundial da Saúde (OMS) e *Farmacopeia Brasileira* – a exceção da primeira edição,¹⁹ onde a espécie se encontra descrita, porém não se caracteriza o derivado vegetal. Entre os trabalhos pesquisados, diferentes tipos de derivados foram obtidos das partes da planta: óleo essencial,^{3,21,28-34} extrato líquido ou aquoso,^{11,35-49} tintura,^{50,51} fluido supercrítico,⁵² óleo fixo,⁵³ além de frações dos

extratos e substâncias isoladas.⁵⁴⁻⁵⁸ Em alguns casos, adicionou-se ácido ou base à droga vegetal para posteriormente se realizar o particionamento com solventes específicos, visando à produção de frações enriquecidas em metabólitos alvo.^{35,48,59}

3.2.2 Método de obtenção

Diversos métodos de obtenção do derivado vegetal foram encontrados, a saber: hidrodestilação em sistema de Clevenger,^{3,32,33,60} maceração tradicional ou com apoio de sonicator,^{35,39,45,50,61-68} extração em aparelho de Soxhlet,^{5,7,35,36,38,40,47,52,69,70} percolação,^{36,52,71} arraste por vapor-d'água,⁷² destilação simples⁷³ ou infusão.^{63,74}

Em alguns casos, métodos mais complexos foram utilizados para obtenção de frações enriquecidas em determinados constituintes. No trabalho de Djilani e colaboradores,³⁵ o resíduo produzido após a extração foi acrescido de água, acidificado com H_2SO_4 e particionado com éter de petróleo e dietil-éter. Após rota-evaporação, o material foi basificado com NH_4OH e particionado novamente com clorofórmio para obtenção da fração teste.

Em um estudo realizado por Paszkiewicz e colaboradores,⁷⁵ após a filtração e a secagem do extrato, o resíduo foi dissolvido em uma mistura de metanol (10 mL) e água. Em seguida, foi tratado com hexano sob agitação vigorosa para remoção da clorofila, lipídios e hidrocarbonetos. A fração metanólica foi concentrada, acidificada com 3 mL de HCl e novamente extraída com clorofórmio (5 mL). A fração clorofórmica foi fracionada em coluna de sílica-gel com acetato de etila como eluente para obtenção da fração teste.

3.2.3 Caracteres organolépticos

Em especial, o óleo essencial apresentou aparência límpida, odor forte/intenso, pungente e penetrante, coloração amarelada ou verde clara.^{3,30}

3.2.4 Requisitos de pureza

3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.4.2 Microbiológico

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.4.3 Teor de umidade

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.4.4 Metal pesado

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.4.5 Resíduos químicos

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.5 Testes físico-químicos

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.2.6 Prospecção fitoquímica

Os trabalhos pesquisados revelaram a presença de uma série de grupos de metabólitos secundários: glicosídeos, taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenos, fenóis totais, carboidratos e resinas, os quais foram detectados por métodos clássicos de *screening* fitoquímico, pelo método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton⁷⁶ e espectrofotometria de ultravioleta.^{40,71,74,77,78}

3.2.7 Testes de identificação

Segundo a literatura, foram utilizados para identificação: Espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectroscopia de infravermelho, espectrometria de UV-visível, Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Cromatografia Líquida de Média Pressão (MPLC), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), HPLC de fase reversa, cromatografia gasosa acoplada à espectrofotometria de massa e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.^{3,5,30,32,33,43,48-52,54,55,58,59,64,65,70,73,79-88}

3.2.8 Testes de quantificação

3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Atualmente, há um conhecimento extenso e uma rica caracterização dos componentes químicos dos derivados vegetais da espécie *R. graveolens*. A Tabela 1 mostra o tipo de derivado vegetal, os componentes químicos (e suas concentrações, quando disponíveis) e a referência do trabalho.

Tabela 1 – Tipos de derivado vegetal e seus componentes químicos descritos

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos e suas concentrações	Autor
Óleo fixo	Ácidos graxos de C ₁₂ a C ₂₂ . O óleo possui os ácidos graxos (mg%): 2,08±0,1 láurico, 2,18±0,1 mirístico, 3,98±0,1 palmítico, 30,90±1,2 esteárico, 41,92±1,8 oleico, 10,14±0,4 linoleico, 6,50±0,3 linolênico, 2,00±0,1 araquidônico e 2,10±0,1 behênico.	(51)
Tintura	Dictamnina, γ-fagarina, skimianina, pteleina e kokusaginina.	(53)
Fluído supercrítico	Acetatos, acridonas, aldeídos, derivados do benzodioxol, cumarinas, diidrofuranocumarinas, ácidos graxos, furanocumarinas, furoquinolinas, hidrocarbonetos, cetonas, piranocumarinas e quinolinas. 2-nonanona foi o componente principal nas folhas (8,9%), seguido por chalepina (7,1%), 2-undecanona (6,8%), chalepensis (6,6%) e bergapteno (5,5%). 2-undecanona (13,4%) foi o principal constituinte em extratos das flores, seguido por chalepensis (10,8%), rutamarina (9,1%), psoraleno (9,0%), 2-nonanona (7,9%), e bergapteno (7,1%). Chalepensis (13%) foi o composto principal nos extratos do caule, seguidos de 2-undecanona (12%), bergapteno (11,7%), kokusaginina (9,8%) e psoraleno (7,2%). Geijerene (19,3%) foi o componente principal do extrato de raiz, seguido de 6 - (39,59-benzodioxilo) -3,3-dimetil-1-hexano (8%), dictamina (6,9%), rutacultina (6%) e bergapteno (3%).	(52)
Óleo essencial	2-nonanona, 2-decanona, 2-undecanona, 2-dodecanona, acetato de octila, ftalato de etila e acetato de pentadecanila.	(3)
Óleo essencial	α-Pineno, campheno, β-Pineno, heptan-2-ona, p-cimeneo, limoneno, 1,8-cineol, n-octanol, terpinolene, ácido valérico, non-2-eno, nonan-2-ona, linalol, álcool fenil etílico, nonan-2-ol, ácido octanóico, salicilato de metila, decan-2-ono, decan-2-ol, acetato de octila, undecan-2-ona, undecan-2-ol, dodec-2-eno, tridecano, decyl-2-acetate, dodecan-2-one, tridecan-2-ona, α-copaeno, β-cariofileno, α-humuleno, d-dadineno, hexadecano, α-eudesmol, pentadecan-2-ona, heptadecano, pentadecanol, hexadecanol, xantotoxina.	(30)
Óleo essencial	2-nonanona, 2-nonilacetato, 2- undecilacetato e 2-undecanona.	(31)
Óleo essencial	Mirceno, limoneno, terpinoleno, 2-nonanona, 2-decanona, 2-undecanona, 2-dodecanona, 2-tridecanona, 2-nonil acetato, 2-docil acetato, 2-octil acetato, 2-nonanol, 2-undecanol, naftaleno.	(32)
Óleo essencial	α-limoneno, 2-nonanona, 5,6-dietil-1-metil-ciclohexano, 2-decanona, 1-noneno, 2-undecanona, 2-dodecanona, 2-tridecanona, 1-tetradecanol metacrilato, 12-metoxi-19-norpodocarpa-2,5,8,11,13-pentaeno-7-ona.	(21)
Óleo essencial	2-octanona, 2-nonanona, 1-noneno, 2-noneno, undecano, 2-nonanol, teteradecanol, antraceno, dodecanal, 2-undecanona, 2-dodecanona, elemol, 2-heptanol acetato, geireno, n-pent-3-ona, n-hex-3-en-2-ona	(33)
Extrato aquoso	Glicosídeos, taninos, alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenos, resinas e carboidratos	(74)
Extrato líquido	Arborinina, evoxantina, isogravacridona-clorina e monometil éter gravacridonediol	(58)
Extrato líquido	Compostos fenólicos	(36)
Extrato líquido	Flavonoides: Rutina e quercetina	(38)
Extrato líquido	Rutina e quercetina	(40)
Extrato líquido	Furanocumarinas	(41)
Extrato líquido	Kokusaginina e skimiamina	(89)
Extrato líquido	Psoraleno, bergapteno e xantotoxina	(46)
Extrato líquido	Rutina	(47)
Extrato líquido	Furoquinolona, alcaloides dictaminas, γ-fagarina, kokusaginina e skimianina, 2-aryl-N-metil-4-quinolona	(48)
Extrato líquido	Cumarinas, terpenoides, alcaloides, flavonoides, ácidos alifáticos, cetonas, rutarina, isorutarina, rutina, cnidioside A, metilcnidioside A, cnidioside B e seu éster metílico.	(90)
Extrato líquido	Rutina	(80)
Extrato líquido	Quercetina, rutina, composto ativo denominado Rg-001	(81)
Extrato líquido	Furanocumarinas, furoquinolinas e alcaloides acridona.	(91)
Extrato líquido	Fenóis totais	(77)

continua



conclusão

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos e suas concentrações	Autor
Extrato líquido	Alcaloides, flavonoides e saponinas	(71)
Extrato líquido	Chalepensis	(92)
Extrato líquido	Rutina e quercetina	(93)
Extrato líquido	Quercetina-3-o-b-d-glicopiranosídeo, quercetina-3-o-a-L-ramnopiranosídeo, kampferol, rutina, isorhamnetina, quercetina, ácido fenólico, caféico e ferúlico	(69)
Extrato líquido	Alcaloides: dictaminina e acridona	(94)
Extrato líquido	Cumarinas: bergapteno, chalepina e chalepensis.	(49)
Extrato líquido	Rutina, xantotoxina, quercetina, 5-metoxipsoraleno	(82)
Extrato líquido	Taninos, saponinas, glicosídeos cardiotônicos, alcaloides, flavonoides e triterpenos esteroides.	(5)
Extrato líquido	Furanocumarinas: xantotoxina e bergapteno	(84)
Extrato líquido	Glicosídeos: 3,6-disinapoilsucrose, cnidiosídeo, rutina, picraquassiosídeo, 3-sinapoil-6-feruloilsucrose, metilcnidiosídeo e metilpicraquassiosídeo.	(85)
Extrato líquido	Composto Rg001 (3-(1,1-dimetil-alil)6-hidroxi-7-metoxi-cromen-2-on) e Rg002 (3-(1,1-dimetil-alil)6-hidroxi-cromen-2-on)	(65)
Extrato líquido	Furanocumarinas, carotenoides, clorofila, furanoquinolinas.	(95)
Extrato líquido	Graveolina	(86)
Extrato líquido	Escopoletina, umbeliferona, xantotoxina, psoraleno e bergapteno	(96)
Extrato líquido	Alcaloides, flavonoides, taninos e esteroides	(78)
Extrato líquido	Esculetina, escopoletina, umbeliferona, cumarina, xantotoxina, psoraleno e bergapteno.	(75)
Extrato líquido	Quercetina	(97)
Extrato líquido	Dictamina, skimiamina, psoraleno, chalepensis, clausindina, graveolina, arborinina, isopimpineline,	(88)
Extrato líquido	Flavonoides: Quercetina e rutina	(54)
Extrato líquido	Skimiamina	(55)
Extrato líquido	Arborinina, dapnoretina metil éter, rutamarina, isoimperatorina, psoraleno, bergapteno, 8-metóxi psoraleno, S-ribalinina, isoplatidesmina, (-)-edulinina, norgraveolina, 7-metoxicumarina, 6,7,8-trimetoxicumarina	(66)
Extrato líquido	Furocumarinas: bergapteno, psoraleno, imperatorina. Alcalóides furoquinolinas: dictaminina, γ-fagarina e skimianina.	(98)
Não disponível	Isogravacridonclorina: Alcaloide furanoacridona	(64)
Não disponível	Furanocumarinas	(99)
Não disponível	Rutina	(87)
Não disponível	Umbelliferona, escopoletina, psoraleno, xantotoxina, isopimpineline, rutamarina, rutacultina (6,7-dimetoxi- 3-(1,1-dimetilalil)coumarina), skimiamina, kokusaginina e edulilnina	(100)
Não disponível	Psoraleno, bergapteno e xantotoxina	(101)

■ 3.3 PRODUTO FINAL

3.3.1 Forma farmacêutica

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.3 Requisitos de pureza

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.4 Resíduos químicos

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.5 Prospecção fitoquímica

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.6 Testes de identificação

Informação não descrita na literatura pesquisada.

3.3.7 Testes de quantificação

3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não

Informação não descrita na literatura pesquisada.

The background of the entire page is a dense, intricate mandala pattern. It features a variety of geometric and organic shapes, including circles, triangles, and leaf-like motifs, all rendered in a dark brown or black line-art style on a light beige or tan background. The pattern is highly detailed and covers the entire surface.

4

INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA

■ 4.1 USOS POPULARES E/OU TRADICIONAIS

É descrito na medicina popular/tradicional diferentes usos para a Arruda. As principais alegações estão relacionadas a:

- Rituais de proteção, problemas espirituais e mau-olhado.^{3,109}
- Dores de cabeça, no estômago, de dente, de ouvido, cólica, gases, rouquidão, cólica menstrual, dores ovarianas, de barriga, antitérmico, inflamações na pele e câimbras.^{3,8,102,108}
- Recaída de mulher, emenagoga, antisséptico, antitétano (infecções), estimulante, abortivo, analgésico contra dores reumáticas, cólicas, amenorreia, menorrágia, trombose e hematomas.^{36,61,105,106,107,108,110}
- Tratamento de doenças do aparelho genital e respiratório, tosse, sinusite, infecção intestinal, bexiga e rins.^{8,103,106,107,108}
- Diurético, conjuntivite, rouquidão, digestivo e/ou calmante.^{104,105,106,110}
- Rigidez do pescoço, tonturas, convulsões, diabetes, problemas relacionados ao ouvido interno (tontura, zumbido etc.), neuralgia e paralisia facial.¹⁰⁷
- Repelente de mosquitos, percevejos, pulgas, tratamento de sarnas, piolhos, vermes e antiparasitária.^{8,10,36,61,105,106,110}
- Picadas de cobra, febre, nervosismo, gripes e feridas.¹⁰⁸

■ 4.2 PRESENÇA EM NORMATIVAS SANITÁRIAS BRASILEIRAS

A espécie *R. graveolens* não se encontra relacionada no Anexo I da RDC n.º 10/2010.¹ Além disso, a Arruda também não se encontra na Instrução Normativa n.º 2, de 13 de maio de 2014, a qual publicou a “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado” e a “Lista de produtos tradicionais fitoterápicos de registro simplificado”.

¹ A RDC n.º 10 de 2010 foi revogada pela RDC n.º 26 de 2014, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos.

■ 4.3 ESTUDOS NÃO CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Após revisão da literatura, foram encontrados dois trabalhos que apresentaram ensaios de toxicidade aguda.

No trabalho realizado por Serrano-Gallardo e colaboradores,⁴² ratos wistar machos com 11 semanas de idade foram tratados por via intraperitoneal nas doses de 30 ou 100 mg/ kg durante três dias. Foram utilizados 25 animais divididos em 5 grupos (n = 5 / grupo), sendo utilizada a metodologia de análise histológica e morfométrica de amostras de fígado. Após serem coletadas as amostras, foram transformadas por técnicas histológicas convencionais para serem incluídas em blocos de parafina. No micrótomo os cortes histológicos de 5 micrômetros de espessura foram obtidos e corados com hematoxilina-eosina para avaliação com auxílio de microscópio de luz. A análise quantitativa de divisão do parênquima hepático foi realizada com oito campos consecutivos e com lente objetiva de imersão em óleo (100x). As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos mostraram que a exposição ao extrato aquoso de *R. graveolens* induziu alterações morfológicas nos fígados avaliados. Essas alterações foram observadas de maneira suave no grupo tratado com 30 mg/ kg do extrato e aumentou significativamente no grupo tratado com 100 mg/kg do extrato por dia. Foi salientado no estudo que o maior dano foi observado no grupo tratado com a combinação de 100 mg/kg de dexametasona com 100 mg/kg do extrato.

Já no trabalho realizado por Lagarto Parra e colaboradores,¹¹¹ camundongos Swiss foram tratados uma única vez por via oral para avaliação da mortalidade em teste realizado de acordo com os padrões da OECD (*The Organisation for Economic Co-operation and Development*). Após 24 horas da administração da tintura, foi observado como sendo a DL₅₀ no teste *in vivo* a dose de 219,45 mg/kg.

4.3.1.2 Toxicidade subcrônica

A Tabela 2 demonstra os trabalhos encontrados que tratam da avaliação de toxicidade subcrônica da espécie *R. graveolens*.

Tabela 2 – Ensaios de toxicidade subcrônica de preparações obtidas da espécie *R. graveolens*

Via	Dose / Frequência	Metodologia	Espécie / Idade	Resultado	Referência
Oral	5, 10 ou 20% (p/v) / 4 dias	As fêmeas foram induzidas a superovulação pela injeção intraperitoneal de 5UI de gonadotrofina sérica de éguas. Após 48 horas foi feita injeção de 5UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG). Neste mesmo dia as fêmeas foram expostas aos machos (em idade reprodutiva) durante o período da noite (1-2 fêmeas por macho). Na manhã seguinte as fêmeas foram examinadas para verificação da formação do <i>plug</i> vaginal (indicador de cópula), o qual foi considerado o dia 1. As fêmeas foram divididas em 4 grupos (3 tratados e 1 controle). Os tratamentos foram iniciados 18 horas após a injeção de hCG e duraram 4 dias.	Camundongos <i>Swiss inbred</i> / 6-8 semanas	As fêmeas que tomaram o extrato não apresentaram sinais de intoxicação e o ganho de peso não diferiu do grupo controle. Os resultados demonstraram que a ingestão do extrato aquoso de <i>R. graveolens</i> durante a fase de pré-implantação alterou a formação de blastocistos normais, explicado em parte pelo número de células do embrião diminuída e retardo do desenvolvimento do embrião. Essas alterações nos parâmetros de desenvolvimento estão relacionadas com a ação dos alcaloides presentes no extrato de arruda.	(112)
Oral	500 mg/kg / 3 semanas	Os animais foram tratados por 3 semanas, onde receberam ração balanceada. Durante o experimento o peso corporal e o consumo de alimento foram registrados 2 vezes por dia. Ao final dos tratamentos os animais foram deixados 16 horas de jejum e o sangue coletado pela veia orbital para os exames bioquímicos.	Ratos albinos machos e fêmeas / N.D.	Foram observados aumento no peso corporal, no consumo de ração e na razão da eficiência proteica após os tratamentos com 500 mg/kg. Nenhuma outra alteração foi observada nos parâmetros avaliados (bioquímicos ou nutricionais), exceto por um aumento na fosfatase alcalina. Os resultados sugerem que o extrato não apresenta efeitos deletérios no <i>status</i> nutricional e é seguro para as funções renais.	(113)
Oral	50, 100 ou 200 mg/ kg / 1x por dia durante 4 dias	Os animais foram tratados por 4 dias e observados diariamente para sinais clínicos. O sangue foi coletado nos dias 2, 4 e 5. Após, os animais foram eutanasiados para necrópsia dos órgãos.	Camundongos <i>Swiss</i> machos e fêmeas / N.D.	Houve uma diminuição na circulação de neutrófilos associada a uma anemia normocrômica-normocítica dose-dependente. ALT e AST tenderam a ser ligeiramente aumentadas no grupo tratado com 100 mg/kg do extrato.	(114)
Oral	9,0 mg/ mL / 1x por dia, durante 30 dias	Durante todo o período de tratamento foram observados para sinais de toxicidade: salivação, lacrimação, alterações no padrão respiratório, ptose palpebral, exposição dentária, estupor, convulsões, tremores, estrabismo e perda de pêlos, estresse, exoftalmia, anormalidades comportamentais e comportamento aversivo, além de diarreia.	Ratos machos / N.D.	Nenhum dos parâmetros avaliados sofreu alteração: salivação, lacrimejamento, alterações no padrão respiratório, ptose palpebral, exposição dentária, estupor, convulsões, tremores, estrabismo e perda de pelos, estresse, exoftalmia, anormalidades comportamentais e comportamento aversivo, além de diarreia. Com o sangue foram quantificados ureia, creatinina, transaminases.	(6)

N.D. = Não disponível.



4.3.1.3 Toxicidade crônica

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.3.1.4 Genotoxicidade

Um único trabalho que avaliou a genotoxicidade foi encontrado após ampla revisão da literatura. Preethi e colaboradores,⁹³ avaliaram o extrato líquido metanólico em Camundongos *Swiss* fêmeas, tratadas por via oral nas doses de 400 ou 1.000 mg/kg, uma vez por dia, durante 30 dias. Um total de 30 animais, divididos em cinco grupos foram submetidos a três diferentes ensaios:

- a. Determinação do efeito clastogênico: 48 horas antes da eutanásia do grupo controle positivo, os animais receberam uma dose de radiação gama 3Gy numa única exposição de todo o corpo. Todos os animais receberam colchicina (2 mg/kg) via intraperitoneal 90 minutos antes da eutanásia para causar interrupção da mitose. As células da medula óssea foram recolhidas em tampão fosfato salino (PBS) contendo FCS a 10% e processadas para análise de aberração cromossômica. Quatro lâminas foram preparadas a partir de cada animal, coradas com Geimsa, observadas sob imersão em óleo e selecionadas para os cromossomos metafásicos. Foram marcadas 100 metáfases, no mínimo.
- b. Indução de micronúcleos: Os animais de controlo positivo receberam 1,5 Gy de radiação gama em uma única exposição de todo o corpo. Os animais foram eutanasiados por deslocamento e foram feitas preparações da medula óssea. Quatro lâminas foram preparadas a partir de cada animal e coradas com May Grunwald Geimsa (MGG). Dois mil eritrócitos policromáticos e normocromáticos correspondentes foram pontuados para a presença de micronúcleos.
- c. Teste do cometa: A medula óssea foi recolhida e o ensaio do cometa foi realizado. As manchas formadas foram visualizadas em um microscópio fluorescente e foram captadas com uma câmera de alto desempenho. As imagens foram analisadas usando o software CASP para obter a porcentagem do DNA na cauda e o comprimento da cauda.

Os resultados demonstraram que vários tipos de aberrações cromossômicas foram observados na medula óssea após os tratamentos. A porcentagem de células aberrantes foi de 21% e 31% nas doses de 400 e 1.000 mg/kg, respectivamente. A medula óssea apresentou alta incidência de indução de micronúcleos para todas as doses testadas após os 30 dias. No teste do cometa, somente a dose de 1.000 mg/kg aumentou o dano, tendo em vista o aumento na quantidade de DNA e aumento na cauda do cometa.

4.3.1.5 Toxicologia in vitro

A Tabela 3 demonstra os trabalhos encontrados que objetivaram a avaliação de toxicidade *in vitro* da espécie *R. graveolens*.

Tabela 3 – Ensaios de toxicidade *in vitro* de preparações obtidas da espécie *R. graveolens*

Ensaio	Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Citotoxicidade	200 mg/ mL	Ensaio colorimétrico enzimático baseado na molécula de MTT, para o cálculo da CC ₅₀ .	Linhagem celular L-929 (ATCC CCI-1) / Densidade aproximada de 2x105 células/ml para cultura celular.	Foram obtidos os seguintes valores aproximados de CC ₅₀ : extração por soxhlet 13 µg/ mL; percolação 1265 µg/ mL; e ultrassom 413 µg/ mL.	(36)
Mutagenicidade*	N.D.	Ensaio de Mutagenicidade não especificado	Cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> TA98/N.D.	Os compostos puros apresentaram atividade mutagênica frente às cepas avaliadas.	(51)
Mutagenicidade*	N.D.	N.D.	Cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> / N.D.	N.D.	(64)
Mutagenicidade*	N.D.	Ensaio de Mutagenicidade não especificado	Cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA1978, TA100 e TA1538 / N.D.	Epóxido de rutacridona (ER) mostrou-se mutagênico contra <i>S. typhimurium</i> . Os compostos não apresentaram efeito sobre a cepa T1978. As evidências sugerem que a rutacridona é convertida pelas enzimas hepáticas a ER, o qual é responsável pela atividade mutagênica.	(115)
Mutagenicidade*	N.D.	Ensaio de Mutagenicidade não especificado	Cepas TA98 de <i>Salmonella typhimurium</i> /N.D.	As furocumarinas usadas no estudo não causaram mutagenicidade em todas as doses testadas. Além disso, estas furocumarinas foram capazes de inibir a mutagenicidade induzida pela dictaminina e rutacridona, de forma dose-dependente.	(94)
Toxicidade Geral	1, 5 ou 10 µg/mL	Os camarões foram incubados, desde a fase de ovo, com água salgada artificial em temperaturas de 20 a 30°C. Após 24 horas, 15 mL de uma solução (0,06%) de fungos foi adicionada para alimentar as larvas. Após 48 horas as larvas foram extraídas e contadas. Os testes foram realizados em tubos testes, contendo 10 larvas do camarão expostas ao extrato, incluindo o grupo controle (somente veículo), contendo 5 mL de água salgada.	Camarões de água salgada <i>Artemia salina</i> L. / 10 larvas de camarão por tubo teste.	Foi encontrado um valor de LC ₅₀ de 5,39 µg/ mL de extrato, considerado bioativo tendo a escala utilizada (valores menores que 1.000 µg/ mL).	(111)
Citotoxicidade	10, 20, 30, 40, ou 60 µM	Ensaio MTT: as células foram cultivadas em meio suplementado com 10% soro bovino e mistura antibiótica-antimicótica. As células cresceram em atmosfera úmida em 5% CO ₂ a 37°C. Após tratadas, as células foram incubadas por 72 horas e a citotoxicidade avaliada. A permeabilidade transmembrana foi avaliada em membranas artificiais (PAM-PA). Um filtro foi utilizado com 15 µL de uma solução a 5% de n-dodecano em n-hexano como barreira lipídica. Análise de apoptose e ciclo celular por citometria de fluxo: para medida do conteúdo de DNA, 24 horas após os tratamentos, células HeLa foram tripsinizadas, lavadas com PBS e permeabilizadas com detergente por 30 min.	Linhagem de células humanas (ECACC, Salisbury, UK): MCF-7 (mama), HeLa (Cérvix) e A431 (pele) / 5.000 células por poço	Arborinina mostrou efeito antiproliferativo (citotóxico) nas 3 linhagens de células. As substâncias regularam o processo apoptótico e o ciclo celular. Os dados apontam que tais substâncias são bons candidatos a novos agentes anticâncer.	(58)



conclusão

Ensaio	Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Mutagenicidade	0, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 5,0, 10,0 ou 20,0 µg/ mL	A mutagenicidade foi calculada por contagem do número de Arg+ revertidos induzidos pelo tratamento. As células mutantes foram cultivadas sob luz contínua (5.000 lux**) em meio mínimo, o qual foi suplementado com 50 µg de arginina hidrocloreto. Após um período de crescimento de 4-5 dias, as suspensões de células de algas foram divididas em 100 mL e distribuídas em placas de Petri. Depois de adicionadas as soluções de teste, as células foram irradiadas com UV-A, sob agitação. Em cada experimento, os valores médios foram calculados a partir de uma série de 6 placas (sobrevivência) e 10 placas (mutagenicidade).	Cepas mutantes de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> / 1-3 x 10 ⁶ células/ mL	O extrato (tintura) preparado de <i>R. graveolens</i> mostrou atividade fotomutagênica moderada em concentrações superiores a 2 µL/mL. O tratamento com 5 µL/ mL associado ao UV-A resultou em forte toxicidade. Todos os compostos apresentaram propriedades fotomutagênicas, porém suas atividades foram ligeiramente diferentes. O Bergapteno foi a furanocumarina mais potente. A Dictaminina, a furoquinolina, com maior efeito, alcançando somente 10% do efeito do Bergapteno.	(98)

* Somente o resumo disponível.
** Lux (símbolo lx), no Sistema Internacional de Unidades é a unidade de iluminamento, intensidade de iluminação ou iluminância. Corresponde à incidência perpendicular de 1 lúmen em uma superfície de 1 metro quadrado.
N.D. = Não disponível.

4.3.1.6 Sensibilização dérmica

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.3.1.7 Irritação cutânea

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.3.1.8 Irritação ocular

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.3.2 Estudos farmacológicos

4.3.2.1 Ensaios in vitro

A Tabela 4 demonstra os estudos farmacológicos *in vitro* realizados com a espécie *R. graveolens*.

Tabela 4 – Estudos farmacológicos *in vitro* de preparações obtidas da espécie *R. graveolens*

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antibacteriana, antifúngica, anticolinesterásica, inseticida e larvicida	Óleo essencial / 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 10% (v/v).	Teste de difusão em ágar, Concentração inibitória mínima empregando prova de sensibilidade por diluição em caldo, porcentagem de inibição de crescimento em meio de cultura, atividade anticolinesterásica, atividade inseticida em grãos de feijão, atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> .	Cepas padrão de micro-organismos ATCC (<i>American Type Culture Collection</i>), atividade inseticida em <i>Aconthoscelides obtectus</i> , atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> / 108 células/ mL.	Com exceção da <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , todas as bactérias testadas foram mais sensíveis ao óleo essencial (OE); O OE mostrou ser agente antifúngico contra as leveduras <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. glabrata</i> ; Observou-se baixa atividade anticolinesterásica (abaixo de 40% de inibição da enzima); O OE demonstrou ser um ótimo agente bioinseticida (100% de mortalidade de <i>A. obtectus</i>) em adultos. A atividade larvicida do óleo essencial foi de 61,641 µg/ mL.	(3)
Inibição enzimática da Tirosinase	Extrato hidroetanólico / 2,5 mg/ mL.	Ensaio espectrofotométrico para determinação da inibição da enzima tirosinase.	Solução de L-tirosina com tirosinase obtida de fungo / 1 mM de L-tirosina; 750 U/ mL de fungo.	Foram obtidos os seguintes resultados (% de inibição da enzima): 41% para extração em Soxhlet, 45% para extração com Percolação, e 32% para ultrassom.	(36)

continua

continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antibacteriana*	Extrato etanólico / N.D.	Método de difusão em ágar em meio sólido para a determinação da menor diluição capaz de inibir o crescimento bacteriano. Foram confeccionados sete poços no meio SB20, com 6 mm de diâmetro cada. Nos poços foram colocados volumes crescentes dos extratos. Verificou-se a presença de atividade antibacteriana por meio do aparecimento de halos de inibição, mesurados com régua milimetrada.	<i>Streptococcus mutans</i> cultivados em meio SB20 sólido / N.D.	O extrato apresentou Concentração Inibitória Mínima na concentração de 12,5 µL e Concentração Mínima Bactericida na concentração de 12,5 µL.	(37)
Antibacteriana*	Óleo essencial / N.D.	Técnica de difusão em meio sólido.	Bactérias Gram Negativas / N.D.	Não foi observado efeito antibacteriano para o óleo essencial.	(72)
Antifúngica	Extrato aquoso / 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 8,0, 9,0 ou 10% (v/v/).	Avaliação da atividade antifúngica do extrato foi realizada pela medição do diâmetro das colônias em cultura feitas em placas de petri com 15 mL de meio de cultivo. As placas foram incubadas a temperatura de 36 ± 0,5°C, sem luminosidade, até a verificação do desenvolvimento das colônias.	<i>Trichophyton mentagrophytes</i> em meio Sabouraud / N.D.	Não foi observado efeito antifúngico em nenhuma das concentrações testadas.	(39)
Bloqueadora de canais de K+	Substâncias isoladas do extrato / N.D.	Técnica de Patch-clamp: os dados foram adquiridos por meio de expressão de Kv1.3 com potencial de -80mV, em solução de Ringer com pipeta interna contendo 145 mM KF, 2 mM MgCl2, 10mM HEPES, 10 mM EGTA. Pulsos despolarizantes de 40 mV foram aplicados a cada 45s durando 500 ms.	Células L929 / N.D.	Os resultados mostram que as substâncias isoladas apresentam potente efeito bloqueador de canais de K+ - Kv1.3.	(89)
Antimicrobiana	Extrato ou Óleo essencial / Extrato (5.000, 2.500, 1.250, 625, 313, 156 ou 78 µg/ mL) e o Óleo essencial (8, 4, 2, 1, 0,5 ou 0,25%).	27 pacientes com diagnóstico clínico de OEA (otite externa aguda) sem perfuração de membrana timpânica nem medicação prévia foram selecionados, independentemente de idade e sexo, durante o período de três meses, sendo realizada coleta de material do ouvido comprometido, por meio de Swab. Para avaliação de atividade antibacteriana dos extratos e óleos essências foram isoladas e identificadas espécies bacterianas, conforme metodologia utilizada na rotina microbiológica, e as amostras foram mantidas em ágar Miller Hinton. Na otomicose, foram isoladas e identificadas leveduras, por meio das características macro e micromorfológicas e bioquímicas. As cepas foram mantidas em ágar Sabouraud dextrose (ASD) a 2% (Difco Laboratories Ltda), estocadas a temperatura ambiente e a 4°C.	Foram utilizados os micro-organismos (bactérias ou fungos): <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> / N.D.	O extrato foi inativo e <i>P. aeruginosa</i> , 4 cepas de <i>S. aureus</i> e as cepas de <i>Candida</i> foram sensíveis ao óleo essencial de <i>R. graveolens</i> .	(29)
Inibição enzimática da Acetilcolinesterase	Extrato Aquoso ou Metanólico / 0,1, 0,05 e 0,025 mg/ mL.	Método colorimétrico de Ellman: em placa de 96 poços, 25 µL de iodeto de acetiltiocolina (ATCI), 125 µL ácido ditio-bis-nitrobenzóico (DTNB), 50 µL buffer B, 25 µL extrato em diferentes concentrações foram misturados e a absorbância medida 5 vezes a 405 nm a cada 13s em um Multiscan Labsystems EX 355. Após, 25 µL de acetilcolinesterase (AChE) foram adicionados aos poços e a absorbância medida 8 vezes a 405 nm a cada 13s. Ensaio bioautográfico de Cromatografia em Camada Delgada: os extratos foram aplicados em placas dessa cromatografia e após o desenvolvimento foram aspergidas com ATCI e DTNB. A sílica foi aspergida com AChE e após 5 minutos, uma borda amarelada apareceu com pontos brancos para os compostos que inibiram a AChE.	Acetilcolinesterase, iodeto de acetiltiocolina e ácido ditio-bis-nitrobenzóico (DTNB) / N.D.	O extrato aquoso e metanólico de <i>Ruta graveolens</i> apresentou atividade moderada, definida como mais de 15% de inibição na concentração mais elevada testada (0,1 mg/ mL).	(43)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Inibição enzimática da Topoisomerase I	Extrato metanólico / 10, 20 ou 40 µM.	Inibição da atividade catalítica: pUC19 DNA foi utilizado como substrato da reação em um volume de 20 µL contendo buffer, albumina bovina e água destilada. O inibidor apropriado foi adicionado e a reação foi iniciada quando da adição de 1,5 unidade de topoisomerase. Em seguida, foi feita eletroforese em gel de agarose (1%), a 4 V/cm por 5 horas em TAE (Tris + ácido acético + EDTA) em solução buffer. A análise da estabilidade do complexo DNA-enzima foi estudada por meio da avaliação do relaxamento do plasmídeo em gel (supercoloide). Após 60 minutos de incubação a 37°C, SDS-proteinase K foi adicionada. Após mais 30 minutos de incubação a 37°C, as amostras passaram por eletroforese em gel de agarose 1%.	Cultura de células RC1, RC3 e RC6, RS / N.D.	Os extratos obtidos das culturas de células demonstraram ação inibitória na enzima topoisomerase I de forma dose-dependente. Não houve alteração do plasmídeo descontraído de DNA, o que sugere que o extrato não inibe a ação da topoisomerase por meio do intercalamento no DNA.	(46)
Antioxidante	Extrato acetônitrílico / 25 µg/ mL.	Ensaio de DPPH: O extrato foi misturado com solução fresca de DPPH e após 30 minutos a absorbância foi medida a 515 nm. A inibição do radical DPPH-livre foi calculada levando-se em consideração as amostras brancas e as amostras testes.	Solução de DPPH / N.D.	O extrato apresentou uma porcentagem de inibição do radical DPPH de 73,5% (extração no banho de ultrassom) e 72% (extração com sonda de ultrassom).	(82)
Antifúngica	Óleo essencial / 8, 4, 2, 1, 0,5, ou 0,25%.	Técnica de difusão em meio sólido para o <i>screening</i> da atividade biológica e para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em placas esterilizadas foi depositado 1 mL da suspensão do micro-organismo. Em seguida, foi adicionado 21 mL do meio sólido fundido a 50°C. Após solidificação, foram depositados três discos de papel de filtro (Cecon/SP) embebidos com 0,02 mL da suspensão de cada óleo essencial. O sistema foi incubado a temperatura de 28°C a 32 °C durante dez dias.	<i>Malassezia furfur</i> / 20 cepas.	Não foram observados efeitos inibitórios do óleo essencial.	(34)
Biodisponibilidade de espécies reativas de nitrogênio*	Extrato aquoso / 1%.	Estudo da síntese de ONOO- e geração de ONOO. Habilidade de doar NO ou de sequestrar NO liberado.	N.D. / N.D.	O extrato não foi capaz de aumentar a geração de ONOO-, aumentou o rendimento do ONOO- preparado em mais de 5 vezes. O extrato aumentou a doação e liberação de NO.	(73)
Anti-inflamatória	Compostos isolados do extrato metanólico / 500 µL/mL.	A quantificação de TNF-α foi feita por ensaio ELISA. A medida de óxido nítrico foi feita utilizando o ensaio de Nitrito de Griess: 100 µL de sobrenadante celulares foram incubados por 10 minutos a temperatura ambiente com reagente de Griess em placas. Foi medida a absorbância a 550 nm.	Cultura de células de sangue total humano, macrófagos murinos (J-774) / Células de macrófagos 2x106 células/ mL.	O extrato e as substâncias isoladas Rg-001 e Rg-002 mostraram-se potentes inibidores da produção de óxido nítrico.	(65)
Antibacteriana e antifúngica*	Compostos isolados do óleo essencial / N.D.	Método impedimétrico e atividade bacteriostática e antimicrobiana geral.	Cepas <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Candida mycoderna</i> e <i>Aspergillus niger</i> .	Os compostos isolados inibiram o crescimento da bactéria gram-positiva <i>B. subtilis</i> e do bolor <i>A. niger</i> .	(116)
Antibacteriana	Metanol tamponado ou acetona / 0 - 2640 mg/L.	Ensaio do disco: 200 µL de preparado de cultura foram espalhadas sobre as superfícies de agar Mueller-Hinton. Discos estéreis de filtro de papel foram assepticamente colocados nas superfícies e imediatamente impregnados com o extrato. As placas foram então mantidas à temperatura ambiente durante 30 minutos para permitir a difusão do extrato antes da incubação durante 21 horas. Zonas de inibição (incluindo o diâmetro do disco) eles foram medidos, e os valores <12 mm foram considerados como não ativos contra as bactérias. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio do método de diluição em ágar. A CIM foi definida como a concentração mais baixa (mg/ L) do extrato em placas de ágar que não mostram nenhum crescimento bacteriano visível.	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella infantis</i> .	O micro-organismo mais sensível para o extrato de <i>Ruta graveolens</i> foi o <i>Bacillus cereus</i> , tanto no ensaio do disco quanto na medida da CIM (660 mg/L).	(11)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Cardiovascular**	Extrato aquoso / 3, 30, 100, 300, 1,000 ou 3,000 mg/ L.	A artéria caudal ventral foi isolada e colocada numa placa de Petri contendo solução de KH que foi arejada com 95% O2 e 5% de CO ₂ . Tecido conectivo e de gordura foram removidos. Um pedaço da artéria (2 cm) foi cortado sob um microscópio de dissecação em 45° para produzir uma tira helicoidal. A tira helicoidal foi amarrada em ambas as extremidades e, em seguida, suspensos numa câmara de tecido de 10 mL, o qual foi arejado continuamente com 95% de O2 e 5% de CO2 a 37°C. Uma extremidade da tira helicoidal estava ligada perto do fundo do banho do órgão e a outra extremidade foi ligada a um transdutor de deslocamento de força. Contrações isométricas foram registradas em fisiógrafo. A tira helicoidal foi equilibrada durante 60 minutos sob uma tensão de repouso de 0,7 g. Estudos sobre efeitos cronotrópicos e inotrópicos em átrios direito isolados: Foram preparados os átrios direitos de ratos machos. Quando a batida atrial (AR) e a tensão atrial (AT) foram estáveis após a primeira dose, a próxima dose mais elevada foi aplicada imediatamente, e assim por diante. Respostas cronotrópicas e inotrópicas foram, em seguida, obtidas.	Átrios direitos e tiras de artérias caudais de ratos machos <i>Sprague-Dawley</i> / 5 a 6 por grupo experimental.	O extrato mostrou efeito cronotrópico positivo e efeito inotrópico em átrios direitos isolados. A combinação de arruda com alga marinha exerceu um efeito de relaxamento.	(44)
Antibacteriana e antifúngica	Extrato metanólico e partições (éter, acetato de etila ou água:metanol) / 1, 10, 100 ou 1000 µg/ mL.	Método modificado de difusão em disco.	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Corenebacterium diphtheriae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> .	O extrato não mostrou atividade frente à bactéria gram-negativa <i>E. coli</i> e ao fungo <i>C. albicans</i> . Apresentou efeito inibitório frente a: <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>L. monocytogenes</i> e <i>B. subtilis</i> .	(90)
Espermicida	Extrato aquoso / 6,25, 12,5, 25, 50, 100 ou 200 mg/ mL.	Ensaio de imobilidade: Após filtração do extrato, o líquido resultante foi adicionado a amostras de sêmen humano na proporção de 1:1. No grupo controle foi adicionado a mesma proporção de PBS. Para verificação da motiliadade espermática, 10 µL da mistura foram adicionados imediatamente em uma lâmina preaquecida e, ao menos, 10 campos foram visualizados (para contagem de, no mínimo, 200 espermatozoides). A motilidade foi avaliada usando o sistema de classificação da OMS (1999). O total de espermatozoides móveis foi somado. A menor dose capaz de causar 100% de imobilidade foi chamada de dose mínima eficaz (DME). Ensaio de reversão da imobilidade (teste de avivamento): Após incubação dos espermatozoides com a DME e com o controle (PBS) durante 2 horas, as soluções foram lavadas duas vezes em PBS e incubadas a 37°C durante 30 minutos para observar a reversão da motilidade dos espermatozoides e alterações morfológicas. Ensaio de viabilidade espermática e integridade da membrana: 25 µL de amostras coradas e 25 µL das amostras testes foram misturadas por 30s. Em seguida, um esfregão foi feito de 15 µL da mistura. Após secagem, foi feita visualização ao microscópio (1.000x). A porcentagem de células vivas (brancas) e mortas (coradas) foi calculada levando com base uma contagem total de 200 células.	Cultura de espermatozoides / 106 células.	Os efeitos da imobilização espermática apareceram imediatamente e de modo dose-dependente. 100% dos espermatozoides tornaram-se imóveis na concentração de 100 mg/mL. No teste de avivamento, 30,8 ± 3,2% dos espermatozoides retomaram o movimento, além de apresentarem cauda enrolada em 38,6 ± 5,5% nas células tratadas, em comparação com 12,5 ± 2,0% do grupo controle.	(9)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Anti-inflamatória	Extrato metanólico / 100, 200, 300, 400 ou 500 µg/ mL.	Efeito do extrato na produção de óxido nítrico (NO): após o correto estabelecimento da cultura celular, as células foram desafiadas com diferentes concentrações de LPS de <i>E. coli</i> e a concentração de LPS escolhida foi de 1 µg/ mL. As células foram pré-tratadas com as diferentes concentrações do extrato ou com rotina isolada ou a associação. Em seguida, foram incubadas por 4-16 horas a 37°C em estufa de CO ₂ . Após 4h de incubação as células foram usadas para extração de RNA e após 16 horas de incubação foram usadas para detecção de NO pelo método de Griess; O RNA foi quantificado espectrofotometricamente e 2 µg de RNA total de cada amostra foram utilizados para síntese de cDNA. PCR específica para iNOS e COX-2, tendo o gene normalizador G3PDH, foi realizada.	Cultura celular de macrófagos murinos (J-774) / 2x10 ⁶ células/ mL.	Macrófagos mostraram aumento na produção de NO - 30% de inibição foi observada com o extrato (100 µg/ mL). Com um aumento na concentração, a inibição na produção do NO foi crescente (36%, 48,3%, 51,3% e 68,7%). A rotina isolada não apresentou efeito. Efeito sinérgico foi observado quando da administração do extrato (200 ou 500 µg/ mL) com 40 µM de rotina. Uma alta diminuição na expressão de genes iNOS e uma significativa redução nos níveis de expressão de COX-2 foi observada nas células tratadas com extrato.	(80)
Anti-inflamatória e antioxidante	Extrato metanólico e suas partições (éter, clorofórmio ou acetato de etila) / Extrato bruto (300 ou 500 µg/ mL), frações (50, 100 ou 150 µg/mL) e o composto isolado Rg-001 (5, 10 ou 20 µg/mL).	Efeito do extrato na produção de óxido nítrico (NO) ou IL-1β: após o correto estabelecimento da cultura celular, as células foram desafiadas com diferentes concentrações de LPS e a concentração de LPS escolhida foi de 1 µg/mL. As células foram pré-tratadas com as diferentes concentrações do extrato ou frações ou com o composto ativo Rg-001. Em seguida, foram incubadas por 4, 8 ou 16 horas a 37°C em estufa de CO ₂ . Após incubação, as células do sobrenadante foram usadas para quantificação de NO ou IL-1β, enquanto que os péletes foram usados para expressão gênica por RT-PCR; Ensaio de ELISA: o sobrenadante livre de células foi utilizado para medir IL-1β, utilizando <i>kit</i> de ELISA BD Biosciences (USA). Efeito do composto ativo em espécies reativas de oxigênio: foi utilizado o corante DCF-DA, o qual é oxidado pelo peróxido de hidrogênio, peroxinitrito e radicais livres produzindo uma molécula fluorescente. A oxidação do corante é uma medida indireta da presença de intermediários de espécies reativas de oxigênio. As células foram pré-incubadas com a fração dietil-éter ou Rg-001 por 2 horas. As células foram então lavadas e desafiadas com LPS por 16 horas. Posteriormente, foram incubadas com 10 µM DCF-DA por 15 min a 37°C em estufa de CO ₂ . As células foram então lavadas com PBS e analisadas usando microscópio de fluorescência.	Cultura celular de macrófagos murinos (J-774) / 2x10 ⁶ células/ mL.	As frações obtidas e o composto Rg-001 mostraram significativa inibição na produção do NO. O composto Rg-001 e a fração dietil éter inibiram a expressão do gene iNOS. O extrato bruto inibiu a expressão de COX-2. Não houve alterações na quantificação de TNF-α ou na expressão de TNF-α, IL-12 ou IFN-γ em nenhum dos grupos. A expressão de IL-1β foi significativamente reduzida no grupo tratado com o extrato bruto, a fração dietil éter e o composto Rg-001. A fração dietil-éter e o composto Rg-001 significativamente reduziram a formação de espécies reativas de oxigênio. Por fim, a viabilidade celular de macrófagos foi maior que 85% para a maior concentração da fração dietil-éter e para o composto ativo Rg-001.	(81)
Inibição enzimática da Aldeído oxidase	Extrato metanólico e compostos isolados / Extrato (100 µg/mL), Quercetina (10 µM), Rutina (10 µM).	Todas as determinações espectrofotométricas foram efetuadas a 37°C utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV 2550 UV/VIS. O aparelho foi ligado a uma unidade de controle de temperatura da célula de Shimadzu. A cuvete utilizada tinha um comprimento de percurso de 1 cm e o volume total foi constante (3,0 mL). A atividade da aldeído oxidase foi determinada utilizando fenantridina (50 M), benzaldeído (100 mM) e vanilina (50 M), como substratos, medindo a variação da absorbância a 322, 249 e 310 nm, respectivamente. Cada substrato foi incubado separadamente com a fração de enzima em tampão fosfato de pH 7,0 de Sorenson contendo 0,1 mM EDTA e a taxa de oxidação inicial foi medida até 2 minutos.	Células de fígado de cobaios machos Dunkin-Hartley / N.D.	O extrato exibiu uma alta inibição da atividade da aldeído oxidase (89-96% a 100 µg/ mL. A IC ₅₀ para o efeito inibitório do extrato contra a oxidação do benzaldeído, vanilina ou fenantridina foi de 10,4, 10,1 e 43,2 µg/ mL, respectivamente. Quercetina e rutina inibiram a atividade enzimática em torno de 70-95% e 27-52%, respectivamente.	(54)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antibacteriana	Óleo essencial / N.D.	A determinação da susceptibilidade bacteriana foi medida por difusão em ágar Mueller-Hinton. O ágar foi coberto completamente pela suspensão bacteriana (2-3 mL) e as placas incubadas a 37°C durante 15 minutos. O excesso de suspensão foi removido por aspiração. Discos impregnados com óleo essencial foram aplicados à superfície do ágar. As placas então foram invertidas e incubadas a 37°C por 18-24 horas.	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 e <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>E. coli</i> ATCC 35218 e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853. Cepas Hospitalares: <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Shigella flexneri</i> e <i>Vibrio cholerae</i> non-O1.	O óleo apresentou atividade moderada. Os bacilos gram-negativos foram os mais sensíveis. As cepas hospitalares <i>A. hydrophila</i> e <i>V. cholerae</i> foram as mais sensíveis.	(32)
Antibacteriana	Extrato metanólico / 100 ou 500 µg.	Ensaio da luciferase (LRP): 40 µL de 0,1M CaCl2 e 50 µL de phAE129 foram adicionados aos “ <i>vials</i> ” e incubados por 4 horas a 37°C. Após incubação, 100 µL foram misturados com D-luciferina em tubos. A produção da luz foi medida a cada 10s em luminômetro (Monolight 2010) e expressos em unidades de luz relativa (RLU).	Cepas de referência de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv / N.D.	O extrato de <i>Ruta</i> apresentou boa atividade antimicobacteriana contra as cepas de <i>M. tuberculosis</i> testadas em ambas as concentrações.	(7)
Fertilização <i>in vitro</i>	Extrato etanólico / 20 mg.	Os complexos cúmulos-oócitos foram coletados de ratas superovuladas (injeção de 10 UI de gonadotrofina, i.p.). Após 12-14 horas, os animais foram eutanaziados, os cúmulos-oócitos foram coletados e cultivados em meio T6 com 5 mg de BSA. A combinação espermas-cúmulos-oócitos foi incubada por 4-6 horas. A fertilização foi finalmente caracterizada pela formação de embriões com 2 células após 24-26 horas.	Espermatozoides e complexos cumulos-oócitos / N.D.	A capacidade de fertilização dos espermatozoides foi significativamente reduzida no grupo tratado com o extrato de <i>Ruta graveolens</i> .	(117)
Antiveneno de cobra e escorpião*	Extrato aquoso / N.D.	Ensaio para verificação da atividade hemolítica	N.D. / N.D.	O extrato promoveu 100% de inibição da hemólise frente aos venenos testados.	(118)
Citotóxica*	Extrato aquoso, etanólico e etéreo / N.D.	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> contra células de sarcoma <i>Yoshida ascites</i>	Células <i>Yoshida ascites</i> / N.D.	O extrato etéreo de <i>Ruta graveolens</i> mostrou forte atividade citotóxica.	(119)
Anticâncer	Composto isolado do extrato etanólico / 5, 10, 15, 20, 25, 30 ou 35 µg/ mL.	Ensaio de viabilidade celular (MTT): as células foram tratadas (graveolina – 2 horas antes) na presença ou ausência do 3-MA (inibidor de autofagia) ou z-DEVD-fmk (inibidor e caspase) ou ácido ascórbico (sequestrador de espécies reativas de oxigênio). Após, foi feita coloração com laranja de acridina. O citoplasma das células fluoresceram de verde, enquanto que os compartimentos ácidos ficaram vermelhos. A intensidade do vermelho foi proporcional ao grau de acidez ou a quantidade de ácido no compartimento. Estudo de expressão de proteínas sinalizadoras por ensaio de imunoblot: foram utilizados anticorpos anti-LC3, anti-Beclin-1, anti-Atg5, anti-Atg7, anti-mTOR, anti-Bcl2 e anti-GAPDH.Análise da geração de espécies reativas de oxigênio: as células foram incubadas com 10 uM H2DCFDA e fotografadas no microscópio de fluorescência para análisess qualitativas. A intensidade de fluorescência foi medida usando o <i>software</i> Cyflogic.	Linhagens de células A375 (melanoma) e PBMC / N.D.	Graveoliina induziu autofagia nas células A375 associada à proteína Beclin-1. O composto também induziu apoptose nas células cancerígenas (melanomas), uma característica deseja em drogas utilizadas no tratamento do câncer.	(86)
Antioxidante*	Extrato metanólico / N.D.	Ensaio DPPH, Sequestro radical superóxido, hidroxil, óxido nítrico e peroxidação lipídica. Ensaio de estabilização de membrana.	N.D. / N.D.	O estudo observou efeito inibitório do extrato	(120)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Inibição enzimática da Monoaminoxidase	Extrato aquoso, etanólico, etéreo e acetato de etila / 1, 0,5, 0,25, 0,1, 0,01, 0,001 ou 0,0001 mg/ mL.	MAO foi parcialmente purificada por meio do isolamento de mitocôndrias a partir de homogeneizados de fígado de rato. O ensaio contínuo fotométrico ligado à peroxidase foi realizada no formato de microtitulação de 96 poços modificado. Os extratos foram redissolvidos a 36 mg/ mL com DMSO, após diluição em série com tampão de fosfato de potássio (0,2 M, pH 7,6). Cada poço de teste continham 120 uL substrato amino (2,5 mM de tiramina (Sigma-Aldrich) em tampão de fosfato de potássio), 40 uL de uma solução cromogênica (1 mM de ácido vanílico (Sigma), 0,5 mM de 4-aminoantipirina (Sigma-Aldrich), 4 U/ mL de peroxidase (Sigma-Aldrich) em tampão de fosfato de potássio), 40 uL de enzima (homogeneizado de fígado de rato) e 40 uL de amostra. Os poços do fundo continham tampão fosfato de potássio (0,2 M, pH 7,6) em vez de enzima (homogeneizado de fígado de rato). Para testar a atividade específica da MAO-B, o homogenato de fígado de rato foi pré-incubado (37°C, 30 min) com 50 uM clorgilina (inibidores seletivos da MAO-AI, Sigma-Aldrich) para bloqueio total da atividade da MAO-A. As reações foram seguidas a 490 nm, utilizando um leitor de microplacas. A leitura das absorbâncias foi tomada a cada 5 minutos ao longo de um período de 40 minutos. As placas foram incubadas entre as leituras, a 37°C.	MAO (monoaminoxidase), Fosfato buffer potássio, solução cromogênica, enzima do fígado dos ratos, peroxidase e clorgilina.	Foram calculados os seguintes valores de IC ₅₀ para MAO-A: água 267±262, etanol 18,5±1,5, acetato de etila 5±1, éter de petróleo 3±1. Já para a MAO-B: água 1436±909, etanol 35±56, acetato de etila 7±6, éter de petróleo 3±1. Desta forma, os extratos não polares apresentaram os melhores valores de atividade inibitória da MAO.	(121)
Inibição enzimática da AChE ou BuChE*	Extrato hexânico ou metanólico / 400 µg/ mL.	Método colorimétrico de Ellmans	N.D. / N.D.	O extrato mais potente foi o hexânico, o qual demonstrou forte inibição sobre as enzimas.	(122)
Anti-inflamatória e Citoprotetora	Extrato hidroetanólico / 50 ou 100 µg/mL.	As bactérias, após tratamento, foram diluídas em série e inoculadas em placas comerciais Pylori ágar (Kyokuto; Tóquio, Japão) em condições de microaerofilia. Após a incubação de 2-3 dias, as colônias de bactérias foram contadas e a unidades formadoras de colônias (CFU) foram calculados. Para determinar o efeito citoprotetor, as células foram pré-tratadas por 4h e lisadas num tampão de lise (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, 0,2% de Triton X-100, pH 7,5), seguido por centrifugação a 13.000 g durante 10 minutos. Cada amostra de DNA no sobrenadante e o sedimento resultante foram depois precipitados em 12,5% de ácido acético tricloro (TCA) a 4°C, e quantificado usando um reagente difenilamina após hidrólise em TCA a 5% a 90°C. Células AGS foram cocultivadas com o <i>H. pylori</i> na multiplicidade de infecção (MOI) de 50:1 ou tratadas com TNF-α (10 ng/ mL) durante 4 horas na presença ou ausência do extrato. A quantidade de IL-8 no sobrenadante da secreção a partir das células tratadas foi analisada por meio de ELISA (R&D System). Além disso, as células AGS foram semeadas em placas de cultura e deixadas durante a noite, lavadas com PBS três vezes e pré-incubadas com ou sem FBS/antibiótico, seguido pela adição de <i>H. pylori</i> a um MOI de 300:1 durante 1h. Tripsina/EDTA foi utilizado para coletar as células e as espécies reativas de oxigênio intracelular foram medidas após coloração das células com 2 µM hidroetidina (HE) para detectar superóxido intracelular (O ₂ ⁻).	Células <i>H. pylori</i> 193C, células AGS (linhagem de células de câncer gástrico humano) / 108 bactérias/ml (<i>H. pylori</i>) ou 106 células AGS.	O extrato não apresentou atividade sobre a viabilidade de <i>H. pylori</i> . Também não mostrou indução significativa na fragmentação do DNA. Os resultados sugerem toxicidade sobre o <i>H. pylori</i> . O extrato apresentou moderada atividade quando medida a produção de IL-8. Por fim, o extrato não mostrou supressão na produção de espécies reativas de oxigênio.	(123)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antiproliferativa	Extrato metanólico / 3, 6, 15, 30, 37, 60, 75, 150, 300 ou 600 µg/mL.	O potencial clonogênico das células foi medido deixando-se as células por 24 horas para que aderissem aos poços das placas. A formação de colônias, após os tratamentos, foi medida diariamente com ajuda de microscópio de luz. O ensaio foi terminado por fixação das células quando o controle mostrou discreta formação de colônias. Imunoensaio: o lisado de células foi preparado em NP-40 <i>buffer</i> e a concentração de proteínas foram determinadas usando o ensaio de compatibilidade de proteína. Amostras contendo concentrações equivalentes de proteínas foram misturadas com Laemmli <i>buffer</i> e colocadas em fervura por 5 min. Proteínas foram transferidas para membrana PVDF e fixadas em leite em pó desnatado (5%). Anticorpos primários foram usados na diluição de 1:1.000. A peroxidase conjugada e os anticorpos secundários foram usados na concentração de 1:5.000. Ensaio de ativação de caspase 3: foi utilizado kit de ativação de caspase colorimétrico (Sigma). Trinta µg de proteínas totais foram utilizados para o ensaio. Caspase 3 recombinante foi utilizada como controle. As células foram incubadas com 1 µM estaurosporina por 3h. Ensaio de citometria de fluxo: As células foram tripsinizadas com 0,25% tripsina-EDTA e centrifugadas. Peletes foram ressuspensos em 300 µL em PBS, fixadas pela adição de 700 µL de etanol 100% e guardadas a -20°C. Anticorpos anti-p53, β-actina, fosfo-γ-H2AX, Akt-fosfo-akt, ciclina B1 e CDK1 foram adquiridos comercialmente (Danvers, MA, USA).	Linhagem de células de câncer colorretal HCT116. Células RKO e MCF7. Linhagem de células de câncer prostático PC3 e DU-145 / N.D.	O extrato de forma dose-dependente diminuiu a viabilidade e a clonogenicidade das células tratadas e induziu mitoses aberrantes e a ativação da caspase-3. Também induziu a via p53 e a concentração focal das proteínas de resposta ao dano de DNA 53BP1 e γ-H2AX. Além disso, os níveis de fosfo-Akt e ciclina B1 foram reduzidas pelo tratamento, ao passo que apenas a ciclina B1 foi reduzida em fibroblastos dérmicos normais.	(95)
Antibacteriana e antifúngica	Óleo Essencial / Teste de difusão em disco: 10 µL/disco. Determinação da concentração inibitória mínima (MIC): 0,3-163 µg/ mL.	Método de difusão em disco: Foram utilizados 100 µL da suspensão de micro-organismos. Agar Mueller-Hinton e Sabouraud dextrose foram utilizados e distribuídos em placas estéreis. Após a aplicação dos micro-organismos, as placas foram incubadas por 24h a 37°C (bactérias) ou por 24 e 48 horas a 30°C (<i>C. albicans</i> e esporos de fungos, respectivamente). Determinação da concentração inibitória mínima: O teste foi realizado em placa de 96 poços com concentrações ajustas de micro-organismos por poço. A concentração inibitória mínima foi determinada como a menor concentração do óleo essencial na qual o micro-organismo não demonstrou crescimento visível. O crescimento foi indicado pela turbidez do poço.	Cepas padrão de micro-organismos ATCC (American Type Culture Collection) / 2x108 unidades formados de colônias/ml (bactérias), 1-5x106 unidades formados de colônias/ mL (<i>Candida albicans</i>) ou 2x105 esporos/ml de fungos.	O óleo essencial apresentou fraca atividade no teste de difusão contras as cepas de bactérias testadas. Já nos testes realizados contra as cepas de fungos, o óleo revelou forte atividade, principalmente contra <i>Candida albicans</i> .	(21)
Enzimática, antiviral/citotóxica e agonista de receptores CB ₂ .	Compostos isolados do extrato / N.D.	Utilizando placa de 96 poços a porcentagem de inibição da enzima foi calculada determinando a taxa de inibição na presença de inibidor ou do veículo (DMSO). Ensaio de citotoxicidade/atividade antiviral: 50% da atividade citotóxica foi previamente determinada em células HeLa, as quais foram incubadas por 72 horas em ambiente com 5% CO ₂ - 37 °C. A viabilidade celular das células presentes nos poços tratados com os compostos foi avaliada como porcentagem da média de densidade óptica. Ensaio de ligação aos receptores canabinóides: foi utilizado a ensaio de radioligante específico [3H]CP-55,940 a 30 °C. A radioatividade foi medida em filtros com cintilação Beckman LS6500 em Líquido de cintilação Ultima Gold.	Acetilcolinesterase (AChE), células HeLa, Rhinovirus 2 (HRV-2), membrana com superexpressão de receptores canabinoides / N.D.	A arborinina apresentou a maior porcentagem de inibição da enzima AChE com valor de IC ₅₀ de 34,7 µM. As melhores atividades citotóxicas/antivirais foram apresentadas pelos compostos metoxicumarina e arborinina (IC ₅₀ 11,98 e 3,19 µM, respectivamente). A rutamarina apresentou forte ligação aos receptores CB ₂ .	(66)

continua



conclusão

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antidiabética e Citotóxica	Extrato aquoso ou etanólico / 0,125, 0,5, 12, 5 ou 50 µg/ mL	Ensaio de utilização de glicose por células musculares C2C12: foi realizado em placas de cultura de 96 poços. As placas foram incubadas por 3 dias e meio a 37°C sem mudança de meio. No dia do experimento todos os reagentes foram preparados em <i>buffer</i> de incubação. O meio de crescimento foi aspirado e o <i>buffer</i> de incubação com ou sem insulina ou tratamentos foram adicionados a cada poço. As placas foram novamente incubadas por 1 hora a 37°C. Após incubação, 10 µL foram retirados de cada poço e transferidos para uma microplaca vazia. Foi adicionada glicose oxidase e deixados em contato por 15 minutos a 37°C. A placa foi lida ao final em 492 nm. Ensaio de utilização de glicose em células de fígado Chang: o ensaio foi realizado em placas de cultura de 96 poços. Após 72 horas, 10 µL de meio de crescimento fresco, contendo nenhum aditivo, metformina ou os tratamentos foram adicionados. As células ficaram expostas por 48 horas e após a utilização de glicose foi mensurada. Ensaio de citotoxicidade: foi realizado o ensaio de MTT.	Células C2C12 / 5.000 células/ poço; Células de fígado Chang / 6.000 células/ poço.	O extrato etanólico produziu um forte aumento no consumo de glicose das células musculares C2C12. A presença de insulina potencializou a utilização de glicose pelas células musculares tratadas com ambos os extratos. Não houve efeito citotóxico, exceto pela estimulação do crescimento produzida pelo extrato aquoso das células de fígado Chang.	(97)
Citotóxica*	Extrato etanólico / N.D.	N.D.	Linhagens de células RAJI, RAMOS RPMI8866, U937, Jurkat, MDA-MB-453, MCF-7, LNCap-FGC-10, 5637, HeLa, SK-OV-3, A549, Mehr-80, além de células sanguíneas periféricas PBMC/N.D.	O extrato demonstrou alta citotoxicidade frente a células RAJI e RAMOS (IC ₅₀ de 24,3 e 35,2 µg/ mL, respectivamente), além de forte atividade contra células LNCap-FGC-10 (27,6 µg/mL).	(68)
Antiplaquetária e Citotóxica*	Extrato metanólico / N.D.	N.D.	Para atividade citotóxica foram utilizadas células de linhagens tumorais: KB, Hela, DLD, NCI e Hepa / N.D.	Foi demonstrada inibição da agregação plaquetária e efeitos citotóxicos dos compostos isolados de <i>Ruta graveolens</i> .	(88)

*Somente o resumo disponível.
**Classificação feita de acordo com o próprio artigo (metodologicamente o trabalho deveria ser classificado como *ex vivo*).
N.D. = Não disponível.

4.3.2.2 Ensaios in vivo

A Tabela 5 demonstra os estudos farmacológicos *in vivo* realizados com a espécie *R. graveolens*.

Tabela 5 – Estudos farmacológicos *in vivo* de preparações obtidas da espécie *R. graveolens*

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antidiabética	Extrato metanólico / 0,5, 1,0 ou 1,5 g/kg/oral.	Indução de diabetes por meio da injeção de alloxan mono-hidratado dissolvido em solução salina na dose de 150 mg/kg, por via intraperitoneal; Avaliação ponderal, determinação de glicose (aguda – antes e depois de cada tratamento – e ao final do experimento), colesterol e triacilglicerídeos (avaliação ao final do experimento) por meio da coleta de sangue em tubos contendo EDTA para as análises bioquímicas mencionadas.	Ratos Wistar / N.D.	A dose de 0,5 g/kg mostrou diferença significativa na evolução dos pesos dos animais. As ratas diabéticas tratadas com a dose de 0,5, 10 ou 1,5 g/kg mostraram diminuição dos níveis de glicose. Todas as doses promoveram variações nos níveis de triacilglicerídeos e nos níveis de colesterol (116 a 124 mg/dL).	(38)
Anti-hiperglicemiante	Extrato Metanólico / 0,5, 1,0, 1,5 ou 2,0 g/kg/oral.	Foi administrado aos ratos uma solução de Alloxan monohidratado a 10% em dose única de 160 mg/kg durante 5 dias. Foi determinada a concentração de glicose no sangue com o objetivo de se diagnosticar a hiperglicemia quando a concentração de glicose fosse maior que 180 mg/dL. A amostragem foi feita pela veia lateral da cauda e processada com tiras de teste para análise de glicose. Para quantificar a concentração de glicose no sangue, por meio da peroxidase oxidada, o sangue foi retirado pela veia lateral da cauda, utilizando-se seringas esterilizadas de alta densidade com agulha de polipropileno USP 80. Este procedimento foi repetido diariamente por 25 dias, após a administração dos extratos.	Ratos machos - Black 6 / 70 ratos divididos em 7 grupos.	Os valores dos níveis de glicose no sangue de ratos diabéticos sem tratamento foram estimados entre 450-520 mg/dl ± 2,00 ao longo de um período de 25 dias. Além disso, a administração de 500 µg/kg de glibenclamida ® apresentou uma redução significativa de glicose no sangue (519 a 115-112 mg/ dl ± 4,03). Os dados mostraram que os níveis de glicose dos animais tratados com extrato durante os 25 dias, mostraram uma diminuição progressiva (dose-dependente) da glicose no sangue.	(40)
Fototóxica	Extrato etanólico / 0,1% / Tópica.	Para avaliação da atividade fototóxica, os extratos alcoólicos de arruda, assim como uma solução de 8-metoxipsoraleno (8-MOP) a 0,1% foram usados como controles positivos. Um grupo de quatro cobaios albinos Dunkin-Hartley de 300 a 450 gramas cada um, foi utilizado para cada amostra. Cada animal teve seu pelo raspado com auxílio de um tosador, e em seguida, foi depilado com creme depilatório Elegan. O creme foi removido com água e a pele dos animais seca com uma toalha. Após 18 a 20h, a pele do dorso dos animais apresentava-se visivelmente íntegra, sem sinais de irritação e a região dorsal foi dividida em quatro áreas de cerca de 2,5 cm2 com uma fita adesiva 3M de 12 mm. Em duas destas áreas, foram aplicados 0,1 mL de amostra (extrato) e nas outras duas áreas foram aplicados 0,1 mL de solução 0.1% de 8-MOP (padrão positivo). Uma das áreas contendo a amostra e 8-MOP foi coberta com uma folha de alumínio e fixada com fita adesiva. A cabeça dos animais foi coberta e estes foram colocados a 10 cm (região dorsal) de distância de uma lâmpada de luz negra fluorescente de 15 Watts, sendo submetidos a 2 horas de incidência de radiação. Após 24 e 48 horas da exposição, os animais foram observados e a intensidade dos eritemas avaliada segundo a escala: 0 = nenhuma reação, 1 = eritema fraco, 2 = eritema moderado e 3 = eritema severo.	Cobaios albinos Dunkin-Hartley / 4 animais (1 animal por grupo experimental).	O extrato de <i>Ruta graveolens</i> foi utilizado como sendo controle positivo do experimento.	(41)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antinociceptiva e Anti-inflamatória	Extrato etanólico / 100 ou 200 mg/kg/oral ou intraperitoneal.	Teste de contorção abdominal por ácido acético: Grupos de camundongos Swiss foram mantidos em jejum ao longo da noite antes do tratamento, mas tiveram livre acesso à água. Após 30 minutos de receber uma dose oral de extrato, cada camundongo recebeu, por via intraperitoneal, solução aquosa de ácido acético 0,7% (10 mL/kg) e, em seguida, foram colocados numa caixa de observação. O número de contorções foi contado durante 20 minutos depois da injeção de ácido acético. O número de contorções em cada grupo tratado foi comparado com a de um grupo controle. Teste da placa quente em camundongos: Os animais foram colocados numa proveta de vidro de 2 L colocado numa placa quente mantida a 55°C. Latência para exibir a resposta nociceptiva, como lambe patas ou salto foi determinada antes e 15, 30, 45, 60 e 75 minutos após a administração intraperitoneal do extrato. O tempo limite de 60 s foi selecionado para evitar danos nos tecidos. Edema de orelha induzida por xilol: Após 30 minutos da injeção i.p. do extrato, xilol (0,03 mL) foi aplicado na superfície anterior e posterior da orelha direita. Os animais foram mortos duas horas após a aplicação do xilol e ambas as orelhas foram removidas. Seções circulares de ambas as orelhas tratadas e não tratadas foram feitas com 7 mm de diâmetro. A diferença de peso entre a orelha não tratada e tratada foi calculada.	Camundongos Swiss / 10 grupos de camundongos com 5 machos e 5 fêmeas cada.	O extrato apresentou diminuição significativa no número de contorções abdominais (32% de diminuição) com a dose de 100 mg/kg e 33% de diminuição das contorções com a dose de 200 mg/kg. Um efeito antinociceptivo leve foi observado. No entanto, seu efeito foi tardio (45 minutos). A administração do extrato não apresentou diferença significativa no modelo de edema de orelha. Além disso, o extrato de <i>Ruta graveolens</i> apresentou atividade antiproliferativa.	(124)
Abortiva e Estrogênica	Extrato Hidroetanólico / 1.000 mg/kg/oral.	Atividade abortiva: O dia da formação do <i>plug</i> vaginal foi denominado primeiro dia. O extrato foi administrado em 3 grupos experimentais durante a primeira metade da prenhez, nos seguintes períodos: pré-implantação (administração do 1º ou 3º dia), implantação (administração do 4º ao 6º dia) e pós-implantação (administração do 7º ao 9º dia), após o período de tratamento os animais foram mortos, os ovários e útero exteriorizados; Atividade estrogênica: medida por meio da pesagem do útero, cornificação vaginal e abertura vaginal prematura em camundongos sexualmente imaturos.	Fêmeas de Camundongos CF1 / 30 animais divididos em 3 grupos experimentais distintos.	O extrato não promoveu perdas na pré-implantação e implantação dos embriões, no número de fetos vivos e degenerados/mortos e não provocou reabsorção. Entretanto, fêmeas que receberam o extrato no período pós-implantação apresentaram 4 fetos mortos e uma reabsorção. O extrato não apresentou atividade estrogênica significativa. Os resultados sugerem que o extrato apresenta atividade fetotóxica, assim o extrato não deve ser usado como planta medicinal abortiva.	(45)
Antifertilidade	Extrato aquoso, etéreo, metanólico, benzênico ou clorofórmico / Extrato partes aéreas (4 ou 6 mL/kg), extrato etéreo 0,25 ou 0,6 g/kg, Benzênico 0,1 g/kg, Clorofórmico 0,1 g/kg, Metanólico 1 ou 2,5 g/kg, Rutina 0,16, 0,4 ou 1,6 g/kg/oral.	As fêmeas foram monitoradas para verificação do ciclo estral e expostas a animais machos para o acasalamento. O dia 1 foi marcado pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal. Os animais foram divididos em grupo teste ou controle. Os grupos testes foram divididos ainda em 3: tratamento do dia 1 ao 3, do dia 4 ao 6 e do dia 7 ao 9. As ratas foram observadas por um total de 16 dias e os hamsters por 10 dias.	Fêmeas de camundongos e hamsters / 3 grupos testes contendo 10 animais por grupo.	Todos os extratos testados mostraram potencial atividade anticonceptiva. Os extratos benzênico e clorofórmico foram tóxicos. A rutina, administrada isoladamente, foi inativa para os modelos testados. Nenhuma das preparações mostrou atividade em hamsters.	(47)
Contraceptiva	Extrato alcoólico ou infusão / Extrato: 4 ou 8 mg/100 g. Infusão: 0,1 mL/100 g / Extrato via intramuscular e infusão via oral.	Os animais foram tratados no dia 1 (para verificação dos efeitos na fertilização e no início do desenvolvimento fetal) ou no dia 4 (para verificação dos efeitos no estágio de implantação). Animais tratados no dia 1 foram mortos no dia 11 e os tratados no dia 4 foram mortos no dia 14. Após a morte os animais foram laparotomizados.	Ratos fêmeas albinas – primíparas / 20 animais por grupo, totalizando 60 animais.	A concentração de 8 mg/ 100 g (via intramuscular) foi abortífera quando dada no dia. 1. Efeito similar ocorreu quando dada por via oral no dia. 4. Todos os tratamentos reduziram os índices de implantação.	(63)

continua

continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antifertilidade*	Extrato aquoso / 50 mg / oral.	Monitoramento da fertilidade.	Machos e fêmeas de camundongos suíços / N.D.	O extrato reduziu a fertilidade das fêmeas, tendo em vista a redução do número de implantações e do número de fetos viáveis. O número de reabsorções foi aumentado após os tratamentos.	(125)
Anti-inflamatória	Composto isolado Rg-001 / 1 mg/ 25 g peso corporal / intraperitoneal.	Inflamação induzida por endotoxina: Os animais foram pré-tratados com o composto isolado Rg-001 e deixados por 2 horas. Após, foram desafiados com LPS (150 µg/ animal) e deixados por mais 8 horas. Após as 8 horas, o comportamento normal dos animais tratados e não tratados foram observados por um experimentador que não conhecia os tratamentos. Em seguida à observação, o sangue foi coletado utilizando punção retro-orbital. O plasma foi então separado por centrifugação a 500 g por 10 min. Os níveis de nitritos totais foram detectados utilizando kits específicos (R&D). O lavado peritoneal também foi coletado para estudo da expressão gênica de iNOS e IL-1β.	Camundongos BALB/c / N.D.	O composto inibiu a expressão de iNOS e IL-1β em comparação com o grupo controle. Os animais apresentaram comportamento e locomoção normais. A concentração de nitrito foi significativamente abaixada (75%) nas amostras de plasma dos animais tratados em comparação com os animais desafiados com LPS.	(81)
Anti-inflamatória, antioxidante e contra doença aórtica	Extrato hidrometanólico / 20 mg/ kg de peso corporal / oral.	Os animais foram divididos em 3 grupos: Grupo I (controle, dieta padrão), Grupo II (grupo colesterol: dieta padrão acrescida de 1,5% de colesterol e 0,5% ácido cólico), Grupo III (grupo tratado, a mesma dieta do grupo II acrescida do extrato de R. graveolens). Os ratos foram tratados por 90 dias, mortos e o sangue e os tecidos foram removidos em gelo para avaliações bioquímicas. Os ensaios bioquímicos seguiram metodologia específica. Para verificação da atividade da COX e LOX, células mononucleares foram preparadas: 3 mL de solução histopaque 1083 foram colocados em tubo de 15 mL, com 3 mL de soro. Após centrifugação (400 g por 30 minutos a temperatura ambiente) as células do sangue foram separadas em 2 frações: camada superior branca consistindo de células mononucleares e com a maioria das plaquetas na interface e uma camada inferior contendo eritrócitos e granulócitos. Os monócitos foram gentilmente aspirados e lavados (2 vezes) com solução salina de <i>buffer</i> fosfato (PBS). Após a formação de pelete, ele foi ressuspenso em PBS-Tween e colocado pra congelar-descongelar por 3 vezes. O lisado resultante foi utilizado para quantificação das enzimas (COX e LOX). A análise histológica foi feita na aorta e seções do tecido (5µm) foram emblocadas em parafina, e posteriormente, corados com hematoxilina-eosina (HE). Os tecidos foram examinados sobre microscópio óptico.	Ratos albinos machos (Sprague-Dawley) / 6 animais por grupo, totalizando 18 animais.	A atividade das transaminases foi aumentada no grupo dos animais tratados com a dieta rica em colesterol e ácido cólico quando comparados com o grupo normal. O grupo tratado com o extrato mostrou uma redução signficante dos níveis das transaminases. O colesterol total e LDL-colesterol e o índice aterogênico reduziram significativamente, enquanto que o HDL-colesterol aumentou no grupo tratado com o extrato. As enzimas antioxidantes superóxido dismutase, catalase e glutathiona peroxidase aumentaram no fígado e no coração após tratamento. Houve um aumento nos níveis de glutathiona e redução nos níveis de TBARS, e da atividade da MPO e PCR após o tratamento. A atividade da COX e da LOX foi aumentada no grupo com dieta rica em colesterol e ácido cólico, enquanto que o grupo tratado com o extrato mostrou uma redução significativa. Os exames histopatológicos da aorta não mostraram nenhum tipo de alteração.	(126)

continua

continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Contraceptiva masculina	Extrato aquoso / 5 g/kg/oral.	Ensaio de imobilidade: Após filtração do extrato, o líquido resultante foi adicionado a amostras de sêmen humano na proporção de 1:1. No grupo controle foi adicionada a mesma proporção de PBS. Para verificação da motilidade espermática, 10 µL da mistura foram adicionados imediatamente em uma lâmina preaquecida e, ao menos, 10 campos foram visualizados (para contagem de, no mínimo, 200 espermatozoides). A motilidade foi avaliada usando o sistema de classificação da OMS (1999). O total de espermatozoides móveis foi somado. A menor dose capaz de causar 100% de imobilidade foi chamada de dose mínima eficaz (DME). Ensaio de reversão da imobilidade (teste de avivamento): Após incubação dos espermatozoides com a DME e com o controle (PBS) durante 2 horas, as soluções foram lavadas duas vezes em PBS e incubadas a 37°C durante 30 minutos para observar a reversão da motilidade dos espermatozoides e alterações morfológicas. Ensaio de viabilidade espermática e integridade da membrana: 25 µL de amostras coradas e 25 µL das amostras testes foram misturadas por 30s. Em seguida, um esfregaço foi feito de 15 µL da mistura. Após secagem foi feita visualização ao microscópio (1.000 x). A porcentagem de células vivas (brancas) e mortas (coradas) foi calculada levando com base uma contagem total de 200 células.	Ratos Wistar machos / 42 animais divididos em 6 grupos.	Uma redução significativa na mobilidade espermática foi observada uma hora após a administração do extrato. A mobilidade aumentou gradualmente com o passar das horas, e após 6 horas, foi a mesma do grupo controle. Não houve mudanças significativas na viabilidade, na morfologia e na estrutura do DNA. Os níveis de testosterona dos animais tratados com extrato não sofreram alterações quando comparados com o grupo controle.	(127)
Anti-inflamatória	Extrato metanólico / 100, 200 ou 400 mg/kg/oral.	Ensaio da carragininina: a atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo edema de pata induzido por carragininina. Os animais foram tratados primeiramente com as diferentes doses do extrato ou indometacina (controle). Após 1 hora, os animais foram injetados com 1% de carragininina subplantar na pata direita. Ensaio de inflamação exsudativa: exsudatos peritoneais foram produzidos 3 horas após a injeção intraperitoneal de ácido acético 0,05N. A atividade antioxidante foi medida por meio do ensaio DPPH, ensaio de descolorização ABTS e atividade sequestradora de radicais superóxido, óxido nítrico, peróxido de hidrogênio, hidroxil e quelante de metais.	Ratos Wistar machos adultos / Foram utilizados 54 animais divididos em 5 grupos de 6 animais no ensaio da carragininina e 4 grupos de 6 animais no ensaio de inflamação exsudativa.	O extrato mostrou máxima inibição do edema induzido por carragininina (33,3% para dose de 100 mg/kg, 45,3% para a dose de 200 mg/kg e 77,9% para a dose de 400 mg/kg). No modelo de exsudação foi observado uma migração reduzida de leucócitos e de proteínas. O extrato também inibiu a COX-1 (IC50 182,3 µg/ mL) e COX-2 (IC50 190,2 µg/ mL), bem como a lipoxigenase. Considerável atividade antioxidante foi obtida com todos os tratamentos.	(77)
Antifertilidade*	Extrato clorofórmico/ N.D./oral.	N.D.	Ratos / N.D.	O extrato mostrou atividade atuando nos estágios iniciais da prenhez. O trabalho também demonstrou pequena toxicidade para o composto isolado chalepensis.	(92)
Espermatogênese*	Extrato aquoso / 300 mg/kg/ entrape-ritoneal.	Um dia após o último tratamento os animais foram anestesiados e eutanasiados. Em seguida, o testículo direito foi recolhido para análises.	Ratos machos adultos / N.D.	Houve uma diminuição no número de espermatogônias, espermatócitos primários, espermátides e células de leydig, além de redução no diâmetro do túbulo seminífero.	(128)
Abortiva*	Extrato clorofórmico / N.D. / N.D.	Efeito abortivo nas mães e toxicidade sobre os fetos.	Camundongos fêmeas / N.D.	O extrato alterou a capacidade reprodutiva das fêmeas, porém não provocou malformações ou anormalidades.	(129)

continua

continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Anticonceptiva e Antifertilidade	Extrato aquoso, metanólico, etanólico, etéreo, hexânico ou diclorometânico / 400 ou 800 mg/kg /oral.	N.D.	Ratas adultas Sprague-Dawley / N.D.	O extrato (800 mg/kg) apresentou alto toxicidade e foi inativo como agente anti-implantação (400 mg/kg). Todos os preparados foram capazes de aumentar o número de embriões reabsorvidos. Os extratos demonstraram uma redução significativa no peso corporal fetal. O peso placentário foi reduzido nas fêmeas que ingeriram os extratos metanólico, etanólico, etéreo ou diclorometânico. Os extratos na dose de 400 mg/kg administrados do 6º ao 15º dias após o coito, diminuíram o número de fêmeas com fetos e aumentaram a mortalidade.	(130)
Anticonvulsivante	Extrato metanólico / 25, 50 ou 100 mg/kg – atividade anticonvulsivan-te, 100, 200, 400, 800, 1.200, 1.600, 2.000, 2.400, 2.800, 3.200, 3.600 e 4.000 mg/kg – determinação da DL ₅₀ / intraperitoneal.	Os animais foram colocados em caixas, isoladamente, por 30 minutos para adaptação ao novo ambiente. Os controles foram pré-tratados 15 minutos antes com salina e em sequência com pentilenotetrazol, bicuculina, picrotoxina ou NMDLA (agentes indutores de convulsão). Os animais foram observados por 30 minutos. Os animais do grupo teste foram pré-tratados com o extrato, fenobarbital, diazepam, fenitoína, muscimol ou LY233053 antes da administração dos agentes indutores de convulsão. Os animais também foram observados por 30 minutos. O experimento foi repetido mais uma vez com 8 animais, pré-tratados com DMSO. Ensaio de DL ₅₀ : os animais foram tratados com doses crescentes e após 5 dias foram observados e anotados o número de animais mortos.	Camundongos albinos / 8 animais por grupo experimental.	O extrato antagonizou significativamente as convulsões induzidas por pentilenotetrazol, bicuculina ou picrotoxina. O tratamento combinado de doses subefetivas do extrato com muscimol foram capazes de antagonizar as convulsões induzidas por pentilenotetrazol, bicuculina ou picrotoxina. O extrato não afetou as convulsões induzidas por NMDLA. Sugere-se que ação do extrato está envolvida com o sistema GABAérgico. Não foram observados efeitos tóxicos, sendo a DL ₅₀ superior a 4.000 mg/kg.	(5)
Hipotensiva	Extrato aquoso / 0,3, 1, ou 3 mg/kg / intravenosa.	Os animais foram tratados e tiveram suas pressões arteriais medidas na presença ou ausência de uma série de antagonistas (hexametônio, fentolamina, propranolol, atropina, cimetidina, pirilamina ou ketanserina) ou agonistas (metoxamina, isoproterenol, acetilcolina, histamina ou serotonina).	Ratos Sprague-Dawley / 6 animais por grupo experimental.	O extrato foi considerado hipotensor e aumentou o fluxo urinário e a excreção de sódio. Não foi possível delimitar o mecanismo pelo qual o extrato exerceu seu efeito.	(131)
Anticonvulsivante*	Extrato hidroalcoólico / 100, 300, 500, 800 ou 1.000 mg/ kg / intraperitoneal.	Indução de convulsão por pentilenotetrazol (PTZ): os animais foram tratados e após 45 min foi administrado o PTZ (80 mg/kg) para indução do processo convulsivo.	Camundongos NMRI / 56 animais divididos em 7 grupos.	As diferentes doses do extrato retardaram o início das convulsões mioclônicas e tônico-clônicas de forma dose-dependente e reduziram o número de animais mortos após 24 horas.	(132)
Antiandrogênica	N.D. / 100 ou 250 mg/kg/oral.	Teste de fertilidade: os animais foram tratados e observados diariamente para sinais de toxicidade e evolução ponderal. Após 2 exposições, as ratas fêmeas tratadas e não tratadas foram divididas em grupos e acasaladas com machos saudáveis. O efeito da <i>Ruta graveolens</i> na implantação dos embriões foi estimado após o final do período de tratamento.	Ratos fêmeas Sprague-Dawle / 40 fêmeas adultas.	Exposição por 4 semanas não mostrou efeito na fertilidade dos animais, porém mostrou diminuição significativa no peso dos ovários e dos embriões. A exposição por 12 semanas resultou na redução de prenhez e no número dos sítios de implantação quando comparados com o controle. Também foi observado aumento no peso dos ovários e redução no número de fetos viáveis.	(133)
Anti-implantação*	Extrato aquoso/N.D./oral.	N.D.	Ratas Sprague-Dawley / N.D.	O extrato reduziu o número de sítios de implantação dos fetos, número de fetos viáveis e o número de reabsorções.	(134)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antiandrogênica*	Extrato aquoso / 500 mg/kg/oral.	Avaliação do extrato no sistema reprodutivo e fertilidade, com ênfase nos comportamentos agressivo e sexual.	Ratos albinos adultos / N.D.	O extrato induziu redução significativa no peso dos órgãos reprodutivos quando comparados ao grupo controle. A mobilidade espermática e a densidade da cauda epididimal e do ducto testicular foram diminuídas. Uma redução significativa foi encontrada na espermatogênese, assim como no número de espermatócitos e espermátides quando comparadas aos controles. Houve uma diminuição nos níveis dos hormônios testosterona e FSH. O comportamento sexual foi e agressivo foram suprimidos.	(135)
Antiparasitária	Extrato Hidroetanólico / 50, 100 ou 200 mg/kg/oral.	Os animais foram infectados oralmente com 1.000 ovos por camundongo em aproximadamente 0,1 mL de salina. Os animais foram verificados para presença de proglótides nas fezes ao longo do experimento. Após a eutanásia foi feita laparotomia e o trata digestivo foi exteriorizado para pesagem do intestino delgado. Os intestinos foram então abertos para quantificação das proglótides. A quantidade total de parasitas foi avaliada sequencialmente com a ajuda de um estereomicroscópio.	Camundongos Swiss machos e fêmeas / N.D.	Fraca atividade antiparasitária. O extrato não provocou uma eliminação significativa de parasitas.	(114)
Antifertilidade*	Extrato aquoso / 310 mg/kg/intrape-ritoneal.	Análises bioquímicas no soro, peso dos ovários, número de folículos primordiais, número e diâmetro dos corpos lúteos.	Camundongos fêmeas Balb/C / N.D.	Redução no número de folículos primordiais, diminuição do peso dos ovários e dos corpos lúteos.	(136)
Diurética	Infusão / 4,5, 6,75 ou 9,0 mg/mL/oral.	Os animais foram privados de água por 18 horas. A bexiga urinária foi esvaziada por compressão gentil da área pélvica. Cada rato, então, recebeu 15 mL de salina (0,9%). Após 45 minutos, os ratos receberam os tratamentos e foram alocados em gaiolas metabólicas para quantificação da produção de urina por 6 horas – medidas realizadas a cada 1 hora. Clearance de creatinina: os animais passaram pelo mesmo procedimento descrito acima, porém a produção de urina foi medida após 2 e 24 horas. Foi obtido sangue por meio da veia caudal.	Ratos / 30 animais divididos em 5 grupos com 6 animais cada para atividade diurética. Para o clearance de creatinina foram utilizados 12 animais divididos em 2 grupos com 6 animais cada.	A maior concentração da infusão mostrou-se equipotente a droga-padrão furosemida na indução da diurese. Houve aumento na condutividade específica da urina, clearance de creatinina e níveis de Na+ e K+.	(6)
Anti-inflamatória*	Extrato aquoso, etanólico ou metanólico / 20 ou 50 mg/kg/intrape-ritoneal.	Edema de pata induzido por carragenina.	Ratos machos Wistar / N.D.	Extrato na dose de 20 mg/kg e extrato etanólico na dose de 50 mg/kg mostraram inibição máxima do edema induzido por carragenina (90,9%).	(137)
Antidiarreica	Extrato etanólico / 50, 100, 200 ou 300 mg/kg/oral.	Diarreia induzida por óleo de rícino: Os animais foram deixados de jejum por 18 horas, porém tiveram livre acesso à água. Após 30 minutos do tratamento, cada animal recebeu por via oral 1 mL de óleo de rícino e logo em seguida se iniciaram as observações. Um segundo conjunto de animais foi direcionado para a avaliação da acumulação de fluidos no lumen (após eutanásia). Além destes, um terceiro conjunto de animais, recebeu administração de carvão (10% suspensão de carvão em 5% goma acácia) para medição do trânsito gastrointestinal.	Ratos Wistar de ambos os sexos / 60 animais divididos em 10 grupos.	Ambos os extratos (folhas ou dos caules) mostram atividade antidiarreica de forma dose-dependente. Os extratos promoveram diminuição profunda do trânsito intestinal e diminuíram o volume e massa do conteúdo intestinal.	(78)
Anti-implantação*	Extrato não especificado / N.D. / N.D.	N.D.	Ratas fêmeas albinas.	O extrato inibiu a prenhez em 50-60% das ratas.	(138)

continua



continuação

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antinociceptiva	Extrato etanólico / 200 mg/kg/ etanólico.	Os animais foram segurados gentilmente e suas caudas posicionadas sobre o aparelho EMDIE – Modelo TF6 – e a latência para a retirada da cauda foi medida após a aplicação de calor na superfície dorsal da cauda dos animais. A intensidade do calor foi ajustada para que os animais retirassem suas caudas entre 3 e 5s. Teste da placa quente: os animais foram individualmente colocados em uma placa quente a 55°C e o tempo de reação inicial desde a colocação do animal até o início das lambidas nas patas dianteiras foi medido. A latência basal para o teste foi de 9s. Contorções induzidas por ácido acético: ácido acético a 1% foi injetado por via intraperitoneal e os animais foram colocados imediatamente em câmaras de observação de acrílico.	Camundongos machos ICR / 8 a 10 animais por grupo experimental.	O extrato mostrou efeito antinociceptivo na dose de 200 mg/kg em todos os modelos experimentais. A resposta de dor cumulativa, após administração de substância-P, foi diminuída pelo extrato. O pré-tratamento com naloxona ou yoimbina atenuou o efeito antinociceptivo induzido pelo extrato no teste de contorção abdominal. O pré-tratamento com metsergida não afetou a antinocicepção. Sugere-se que o efeito antinociceptivo esteja relacionado com o sistema opioide e adrenérgico (alfa-2), mas não com o serotoninérgico.	(139)
Contraceptiva	Extrato etanólico / 20 mg/dia/ intrape-ritoneal.	Motilidade espermática: foi utilizada a câmara de Makler. Todas as contagens foram realizadas a 37°C. A motilidade foi classificada como progressiva ou não progressiva. Inicialmente, foram avaliadas 100 amostras. A atividade progressiva foi definida como a contagem de espermatozoides que se moveram para frente. Contagem de espermas: os espermas foram coletados do epididimo. As amostras foram centrifugadas a 100 g por 2 minutos e o precipitado foi ressuspensionado em 10 mL de meio T6. Uma fração da suspensão foi misturada com azul de Tripán e o número de espermatozoides foi contado.	Ratos machos adultos / 24 animais divididos em 3 grupos.	Os animais tratados com extrato tiveram uma redução na motilidade espermática e na contagem de espermatozoides.	(117)
Antiaterogênica*	Frações do extrato / 10 mg/kg/N.D.	Método para avaliação da redução do dano oxidativo e inflamação em coelhos hipercolesterolêmicos.	Coelhos <i>New Zealand</i> / N.D.	O tratamento diminuiu os níveis de colesterol total e LDL-c. Houve aumento do HDL-c. A DL ₅₀ foi calculada como 525 mg/kg. O tratamento também aumentou a atividade das enzimas e os níveis de glutathione. A atividade da COX-2, 5-LOX e MPO foram significativamente suprimidas. Mudanças significativas foram observadas nas paredes da aorta e formação de placas.	(57)
Contraceptiva*	Extrato alcoólico/20 mg/kg/ entrape-ritoneal.	Função testicular por meio da contagem espermática no epididimo.	Ratos machos adultos / N.D.	O tratamento reduziu a contagem espermática e a espermatogênese.	(67)
Anti-inflamatória	Extrato metanólico / 20 mg/kg/oral.	Artrite induzida: os animais foram divididos em seus respectivos grupos e o processo inflamatório da artrite foi induzido pela injeção de 0,1 mL do adjuvante de Freund (FCA). Ao final do experimento os animais foram eutanasiados por decaptação. O sangue e as cartilagens conjuntivas foram coletados para análises bioquímicas. As cartilagens foram homogeneizadas em solução contendo 5% ácido tricloroacético e 5 mM de EDTA a 4°C e centrifugadas por 10 minutos a 15.000 g.	Ratos machos adultos / 24 animais divididos em 4 grupos.	As atividades da COX-2 e mieloperoxidase e as concentrações do ácido tiobarbitúrico (TBARS) diminuíram e a atividade das enzimas antioxidantes (vitaminas E e C e glutathione reduzida) foi aumentada. Os outros parâmetros avaliados (sedimentação eritrocitária, conteúdo de hemoglobina, contagem de células vermelhas e brancas, proteína C-reativa) foram significativamente restabelecidos após os tratamentos.	(140)

continua



conclusão

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Anti-inflamatória	Frações do extrato / Agudo: 5, 10 ou 15 mg/kg. Crônico: 10 mg/kg/Agudo: intraperitoneal. Crônico: oral.	Inflamação aguda – Foi utilizado o protocolo do edema de pata induzido por carragenina. Após 1 hora dos tratamentos os animais receberam 0,1 mL da suspensão de carragenina a 1%, por via subplantar. O volume da pata foi mensurado de hora em hora por 3 horas usando aparelho específico. Inflamação crônica – Foi utilizado o protocolo de artrite induzida: o processo inflamatório da artrite foi induzido pela injeção de 0,1 mL do adjuvante de Freund (FCA). Ao final do experimento os animais foram eutanasiados por decaptação. O sangue e as cartilagens conjuntivas foram coletados para análises bioquímicas. As cartilagens foram homogeneizadas em solução contendo 5% ácido tricloroacético e 5 mM de EDTA a 4°C e centrifugadas por 10 minutos a 15.000g.	Ratos Wistar machos / 54 animais divididos em 9 grupos.	A fração alcaloide na dose de 10 mg/kg mostrou alta atividade anti-inflamatória. Esta fração reduziu significativamente o edema de pata dos ratos artríticos. Os níveis de TBARS, COX-2, 5-LOX e MPO foram reduzidos e os níveis das enzimas antioxidantes e GSH foram aumentados. Os níveis da proteína C-reativa foram restabelecidos. Os resultados demonstram um benefício potencial da fração alcaloide nos modelos agudo e crônico de inflamação em ratos.	(141)
Anti-inflamatória	Extrato hexânico: metanólico (substância isolada) / 1 - 100 mg/kg/intrape-ritoneal.	Foi utilizado o protocolo do edema de pata induzido por carragenina. Após 1 hora dos tratamentos os animais receberam 0,1 mL da suspensão de carragenina a 1%, por via subplantar. O volume da pata foi mensurado de hora em hora por 3 horas usando aparelho específico. Ao final do experimento os animais foram mortos e as patas amputadas e guardadas em nitrogênio líquido.	Ratos machos Wistar / N.D.	Houve uma redução nos níveis de mRNA de TNF-α e IL-6. As atividades da COX-2 e 5-LOX foram significativamente reduzidas. Infiltração neutrofílica, peroxidação lipídica e estresse oxidativo associado foram todos reduzidos nos animais tratados. Sugere-se o potencial terapêutico anti-inflamatório do composto skimiamina.	(55)
Perfil lipídico, glicose e hematológico de animais diabéticos.	Extrato hidroetanólico / 10, 20 ou 30 mg/kg/intrape-ritoneal.	A diabetes foi induzida pela estreptozotocina (Sigma) administrada por via intraperitoneal na dose de 60 mg/kg.	Ratos Wistar machos / 30 animais divididos em 6 grupos.	Houve redução significativa nos níveis de colesterol total e LDL-c, enquanto não houve alterações nos níveis de glicose, triglicérides, VLDL-c e HDL-c.	(142)
Anti-inflamatória e Antiapoptótica	Extrato metanólico / 375 ou 750 mg/kg/oral.	A inflamação foi induzida por meio da administração oral de AlCl ₃ na dose de 17 mg/kg diariamente por 1 mês. No final do experimento o sangue foi coletado utilizando o sino orbital. Após a coleta do sangue os animais foram eutanasiados por decaptação e os cérebros coletados em solução salina. As estruturas foram divididas ao meio e pesadas. Uma das metades foi homogeneizada em meio adequado na presença de gelo seco. O homogenato foi centrifugado a 1.800 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi separado para avaliações bioquímicas. A segunda metade foi guardada para avaliações histológicas.	Ratos machos Sprague Dawley / 70 animais divididos em 7 grupos.	O tratamento resultou em significativa inibição da atividade da acetilcolinesterase, redução nos níveis de MCP-1 e LTB4. Os níveis de Bcl2 foram aumentados. O exame histopatológico mostrou congestão com edema perivascular e gliose focal. Ocorreu também encefalomalácia com formação de placas no hipocampo (tratamento na dose de 750 mg/kg). Por outro lado, o tratamento com 350 mg/kg não levou a nenhuma alteração importante.	(143)

*Somente o resumo disponível.
N.D. = Não disponível.



4.3.2.3 Ensaios ex vivo

Do total de trabalhos selecionados para a monografia, poucos foram aqueles que relataram a atividade farmacológica *ex vivo*. Entre eles, dois relacionam-se a atividade farmacológica no músculo cardíaco, um no músculo uterino e, por fim, um trabalho demonstrando a atividade do extrato da arruda no músculo liso gastrointestinal (Tabela 6).

Tabela 6 – Ensaios ex vivo de preparações obtidas da espécie *R. graveolens*

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Antiarrítmica	Etanólico e fração alcaloide / 1,25, 2,5 ou 3,8x10-6 % (extrato) e 0,25 ou 0,5x10-6 mg % (fração alcaloide).	Modelo de Langendorff: os animais foram injetados (i.p.) com 2.500 unidades de heparina e anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/kg). O coração foi rapidamente removido e colocado em fluido de perfusão gelado sob respiração artificial. A aorta foi canulada e perfundida com solução Tyrode. A perfusão foi mantida a 37,5°C, pH de 7,35 e com mistura gasosa de 95% O ₂ / 5% CO ₂ . Os eletrogramas foram obtidos por eletrodos bipolares de prata. Eles foram colocados próximos ao nodo sinusal e ao ventrículo direito. Os estímulos foram executados usando computador e <i>software</i> . O coração foi estimulado com pulsos de 0,4 ms de duração, com os estímulos ajustados ao dobro do limiar diastólico. As amplificações foram obtidas por meio de eletrograma em polígrafo Power Lab, ML870, Austrália.	Aorta isolada e coração / 24 animais machos (ratos Sprague-Dawley).	O extrato da planta e a fração tiveram efeitos similares no tempo de condução do nodo. Houve aumento do tempo de condução (83 para 108 ms) e no período refratário (157 para 163 ms).	(71)
Contratilidade aórtica*	N.D.	Contração de tiras da aorta induzidas por K+	Tiras da artéria aorta / N.D.	O extrato apresentou clara atividade na contração das tiras.	(144)
Uterotônica	Metanólico e substância isoladas / 0,0125-1,25 mg/mL.	Camundongos fêmeas virgens foram injetadas com 0,1 mg/kg de estradiol 24 horas antes dos experimentos. Os cornos uterinos foram removidos e colocados em cubas preparadas com solução fisiológica De Jalon conectados a um transdutor.	Tiras de útero de camundongos fêmeas / N.D.	A fração n-butanol foi considerada a mais potente de forma dose-dependente na contração uterina. A rotina também mostrou atividade uterotônica máxima na concentração de 0,25 mg/mL.	(69)
Contratilidade músculo liso gastrointestinal*	Etanólico / 5, 10, 50 ou 100 µl/ mL.	Cada um dos segmentos de estômago ou duodeno foi montado preso a ganchos em banho de órgãos isolados com solução de Ringer-lactato a 37°C, pH 7.3-7.4 e borbulhados com 95% O ₂ e 5% CO ₂ . Um dos ganchos foi conectado verticalmente ao topo do banho e o outro gancho a um transdutor de tensão conectado a um polígrafo Beckman. Foi aplicada tensão basal de 500 mg. Após a estabilização, doses crescentes do extrato de <i>Ruta</i> foram adicionados.	Tiras de estômago e duodeno / N.D.	A amplitude de contração reduziu, após tratamento com a dose de 5 µl/ mL, em 50% e 60% no estômago e no intestino delgado, respectivamente. Com 10 µl/ mL a amplitude mudou em ambos os órgãos (96% no intestino e 75% no estômago). A frequência de contração também foi alterada (32% no intestino delgado e 50% no estômago) na concentração de 10 µl/ mL.	(145)

*Somente o resumo disponível.
N.D. = Não disponível.



■ 4.4 ESTUDOS CLÍNICOS

4.4.1 Fase I

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.4.2 Fase II

O único estudo clínico encontrado para a espécie *R. graveolens*, após ampla revisão da literatura, avaliou o extrato aquoso em defeitos do campo visual. Foram observados nove pacientes, os quais tiveram seus escotomas visuais avaliados, desde a administração do extrato até dois dias subsequentes. Em cinco pacientes o escotoma foi reduzido, sendo que não foram observados efeitos adversos em nenhum dos pacientes que receberam o tratamento.¹⁴⁶ Cabe ressaltar que somente o resumo do estudo estava disponível, o que limitou as informações obtidas de tal trabalho.

4.4.3 Fase III

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.4.4 Fase IV

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.4.5 Estudos observacionais

Informação não descrita na literatura pesquisada.

■ 4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO

4.5.1 Vias de administração

A partir dos usos populares ou tradicionais da espécie *R. graveolens*, pode-se verificar que existem três principais vias de administração: via oral, aplicação direta no local / tópica ou via inalatória.^{8,10,102,104,106-108,110,147}

4.5.2 Dose diária

De acordo com os trabalhos,^{148,149} as principais formas e doses diárias são:

- Sumo: 3 gotas do sumo em 1 gota de álcool.
- Pó das folhas secas: 0,5 a 2 g/dia.
- Extrato fluído: de 6 a 25 gotas, 2 a 3 vezes por dia.
- Tintura: 2 a 10 mL/dia.
- Xarope: 10 a 40 mL/dia.
- Essência: 1 a 7 gotas/dia.
- Infusão: 2 a 3 g de folhas secas em 1 L de água.
- Decocção: 100 g da planta fresca em meio litro de água.

4.5.3 Posologia (dose e intervalo)

A posologia é variada,¹⁰⁷ não sendo citada a variação de dose utilizada. Entretanto, dois trabalhos colocam que a posologia, de acordo com dados de usos populares e/ou tradicionais, deve ser de uma colher de chá da planta em um copo de água fervente, uma vez ao dia.^{8,102}

4.5.4 Período de utilização

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.5 Contraindicações

A principal contraindicação diz respeito a administração da arruda para gestantes e em período de amamentação.¹⁰² Além disso, se usada por via oral em altas doses pode ser tóxico.¹⁰⁵ Em um levantamento etnofarmacológico,¹⁰⁷ é relatado que a espécie apresenta efeitos tóxicos importantes, porém, o povo do norte do Novo México consideram a planta como sendo segura, mas cuidando e respeitando-a em suas formas mais concentradas.

4.5.6 Grupos de risco

Conforme citado no tópico anterior, os principais grupos de risco são gestantes e lactantes.¹⁰²

4.5.7 Precauções de uso

O uso interno da planta deve ser alicerçado em formulações padronizadas e com acompanhamento clínico adequado, devido a sua grande toxicidade. Durante a gravidez, a arruda tem efeito especial sobre o útero,¹⁰² além de o seu preparado poder causar sérias queimaduras por meio da exposição solar ou dermatite de contato.¹⁰³

4.5.8 Efeitos adversos relatados

Nas descrições populares somente é relatado que pode causar sérias queimaduras por meio da exposição solar ou dermatite de contato.¹⁰³

4.5.9 Interações medicamentosas

4.5.9.1 Descritas

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.9.2 Potenciais

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.10 Informações de superdosagem

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.10.1 Descrição do quadro clínico

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.10.2 Ações a serem tomadas

Informação não descrita na literatura pesquisada.



The background of the entire page is a dense, intricate mandala pattern. It features a variety of geometric and organic shapes, including circles, triangles, and leaf-like motifs, all rendered in a dark brown or black line-art style on a light beige or tan background. The pattern is highly detailed and covers the entire surface.

5

**INFORMAÇÕES
GERAIS**

■ 5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS / FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA

A única forma/formulação descrita é a forma farmacêutica homeopática de uso interno. A preparação é feita a partir da tintura-mãe de *R. graveolens*, preparada por maceração ou percolação, de forma que o teor alcoólico durante e ao final da extração seja de 65% (V/V), segundo a técnica geral de preparação de tintura-mãe.¹⁷

■ 5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS

A espécie vegetal *R. graveolens* está registrada exclusivamente como fitoterápico associado. Não há registro da espécie como derivado simples.¹⁵⁰

■ 5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

De acordo com a *Farmacopeia Homeopática Brasileira*,¹⁷ deve-se armazenar a tintura-mãe em frasco de vidro neutro, âmbar, bem fechado, ao abrigo da luz e do calor.

■ 5.4 ROTULAGEM

Informação não descrita na literatura pesquisada.

■ 5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS

A *R. graveolens* está presente na *Farmacopeia Brasileira* (1ª edição), na *Farmacopeia Europeia*, e é citada brevemente na *Farmacopeia Americana* (1ª edição).

■ 5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL

A lista de patentes a seguir foi compilada a partir do levantamento realizado em dezembro de 2014 nos seguintes bancos de dados: Instituto Nacional da Propriedade Industrial (Inpi), *United States Patent and Trademark Office* (USPTO), *European Patent Office* (EPO), *World Intellectual Property Organization* (WIPO) e *Japan Patent Office* (JPO). A busca retornou um total de 360 patentes:

1. Inpi – 0 registros
2. USPTO – 64 registros
3. EPO – 29 registros
4. WIPO – 256 registros
5. JPO – 11 registros

Foi realizada então a verificação e triagem de todas as patentes. Aquelas que estavam repetidas, as que envolveram o uso não medicinal ou o uso de preparações homeopáticas e as associações de várias plantas, cujo papel da espécie *R. graveolens* não tenha ficado especificado foram descartadas. Desta forma, as que apresentaram aplicabilidade médica, perfizeram um total de 13 e estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Patentes selecionadas da espécie *R. graveolens* que apresentaram aplicabilidade médica

Base	N.º Patente	Título	Requerente	Inventor
USPTO	US/8,637,094 B2	<i>Composition and method for treating viral conditions</i>	Kiani	Iraj E. Kiani
USPTO	US/7,850,998	<i>Method of treating viral conditions</i>	Kiani	Iraj E. Kiani
USPTO	US/7,842,317	<i>Method of treating viral conditions</i>	Kiani	Iraj E. Kiani
USPTO	US/7,700,137	<i>Anti-viral compositions and method</i>	Kiani	Iraj E. Kiani
EPO	WO2014072773 (A1)	<i>Use of Ruta graveolens extract as a vasodilator and/or anti-hypertensive agent</i>	Universidad de La Frontera, Universidad Federal de São Paulo, Sociedad Knop Laboratórios LTDA, Universidad de Antofagasta	Salvatici Salazar, Raúl; Romero Mejías, Fernando; Cifuentes Jorquera, Fredi; Bosco Pesquero, João
EPO	KR20110077090 (A)	<i>Composition for analgesic comprising an extract from root of Ruta graveolens</i>	Univ Hallym Industry Academic Cooperation Foundation (IACF)	Suh, Hong Won; Lim, Soon Sung; Kim, Jin Kyu; Park, Soo Hyun
WIPO	kr1020110077090	<i>Analgesic composition containing Ruta graveolens L. root extract and a method for preparing the same</i>	Industry Academic Cooperation Foundation, Hallym University	Suh, Hong Won; Lim, Soon Sung; Kim, Jin Kyu; Park, Soo Hyun
WIPO	WO/2009/147467	<i>All natural migraine remedy</i>	Paley, Yossi	Paley, Yossi
WIPO	US20070237838	<i>A herbal composition for treating diseases and a method for obtaining the same</i>	Mansilla Audino	Mansilla Audino
WIPO	PA/a/2001/005390	<i>Multiple synergic herbal analgesic remedy</i>	Roberto Monsivais Aguilar	Roberto Monsivais Aguilar
JPO	2006-036788	<i>Fat metabolism-improving composition</i>	Morishita Jintan KK	Ninomiya Kiyobumi; Nishida Norinaga; Matsuura Yoichi; Asada Masanori; Kawahara Yuzo; Yoshikawa Masayuki
JPO	2005-343836	<i>Anti-Influenza virus agent, and infection inhibiting article containing the same and food and drink</i>	LOTTE CO LTD	Shimizu Kazufumi; Kuroda Kazumichi; Sawai Reiko; Osawa Kenji; Shimura Susumu
JPO	2000-226310	<i>Medicine for external use for skin</i>	SHISEIDO CO LTD	Tanaka Naomi; Yagi Eiichiro; Suzuki Yumiko

USPTO (United States Patent and Trademark Office), EPO (European Patent Office), WIPO (World Intellectual Property Organization) e JPO (Japan Patent Office).



■ 5.7 DIVERSOS

É inegável que o principal uso da espécie *R. graveolens* ainda está relacionado aos mitos populares, apesar da quantidade de trabalhos levantados relacionados às diferentes atividades farmacológicas das preparações da planta. A arruda é empregada para energizar as pessoas, além de tirar e afastar o mau-olhado, o quebranto, as más vibrações das pessoas invejosas e é utilizada nos mais diversos rituais religiosos.¹⁴⁸

Desde a Grécia antiga, ela era usada para tratar diversas enfermidades, mas seu ponto forte era mesmo contra as forças do mal. Almeida,¹⁵¹ menciona ainda que era “*regida por Marte, dedicada à Ártemis, e ligada à saúde, à proteção e ao amor*”. As mulheres romanas costumavam andar pelas ruas carregando um ramo de arruda na mão para afastar todos os males que iam além do corpo físico. Na Idade Média, como toda planta de cheiro forte, ela foi muito associada a bruxarias e seus ramos eram usados como proteção contra as feiticeiras e, ainda, serviam para aspergir água benta nos fiéis em missas solenes. William Shakespeare, na obra Hamlet, refere-se à arruda como sendo “*a erva sagrada dos domingos*”. Dizem que ela passou a ser chamada assim, porque nos rituais de exorcismo, realizados aos domingos, costumava-se fazer um preparado à base de vinho e arruda que era ingerido pelos “possessos” antes de serem exorcizados pelos padres.^{148,152}

No Brasil Colonial, a arruda foi associada aos rituais africanos. Numa famosa pintura intitulada “*O vendedor de arruda*”, o artista Jean-Baptiste Debret, retrata o comércio da arruda realizado pelas escravas africanas (Figura 5). O galho de arruda era vendido como amuleto para trazer sorte e proteção.¹⁴⁸ Outro fator teria reforçado o valor da arruda naquela época: a infusão feita com a planta era usada como uma espécie de anticoncepcional e abortivo, efeitos estes que já foram discutidos e destacados ao longo desta monografia. Por fim, na América do Sul, as populações indígenas costumam queimar ramos de arruda para defumar os doentes e suas habitações.¹² O candomblé de Angola e a umbanda, são relacionados ao *orixá Exu*, sendo de natureza feminina.¹⁵²

Figura 5 – Jean-Baptiste Debret: o vendedor de arruda



Fonte: Litogravura do tomo III da Viagem Pitoresca e Histórica ao Brasil.



REFERÊNCIAS

1. Pronczuk J. *Ruta graveolens* L. 1989 [cited 2014 10/10]. Available from: <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/rutagrav.htm#SubSectionTitle:3.1.3>.
2. Lorenzi H, Matos FJdA. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA; 2008. 576 p.
3. Orlanda JFF. Estudo da composição química e atividade biológica do óleo essencial de *Ruta graveolens* Linneau (Rutaceae). Universidade Federal da Paraíba; 2011.
4. Kannan R, Babu UV. Identity and pharmacognosy of *Ruta graveolens* Linn. *Anc Sci Life*. 2012;32(1):16-9.
5. Ahmad AH, Amabeoku GJ. Involvement of gamma aminobutyric acid in the anticonvulsant effect of the leaf methanol extract of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) in mice. *International Journal of Pharmacology*. 2013;9(2):134-42.
6. Jayakody JRAC, Ratnasooriya WD, Fernando WANA, Weerasekera KR. Diuretic activity of leaves extract of hot water infusion of *Ruta graveolens* L. in Rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. 2011;6(5):525-32.
7. Muthuswamy M, Prabuseenivasan, Kumar V. Screening of antitubercular activity of some medicinal plants from Western Ghats, India. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2013;4(4):B328-B34.
8. Thring TSA, Weitz FM. Medicinal plant use in the Bredasdorp/Elim region of the Southern Overberg in the Western Cape Province of South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;103(2):261-75.
9. Harat ZN, Sadeghi MR, Sadeghipour HR, Kamalinejad M, Eshraghian MR. Immobilization effect of *Ruta graveolens* L. on human sperm: A new hope for male contraception. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008;115(1):36-41.
10. Guarrera PM. Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. *Journal of Ethnopharmacology*. 1999;68(1-3):183-92.
11. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*. 2003;80(3):223-30.
12. Alonso JR. *Tratado de Fitomedicina*. Buenos Aires: ISIS Ediciones S.R.L.; 1998. 1039 p.

13. Milesi S, Massot B, Gontier E, Bourgaud F, Guckert A. *Ruta graveolens* L.: a promising species for the production of furanocoumarins. *Plant Science*. 2001;161(1):189-99.
14. Al-Qurainy F, Khan S, Ali MA, Al-hemaid FM, Tarroum M, Ashraf M. Authentication of *Ruta graveolens* and its adulterant using internal transcribed spacer (ITS) sequences of nuclear ribosomal DNA. *Pakistan Journal of Botany*. 2011;43(3):1613-20.
15. Al-Qurainy F, Khan S, Tarroum M, Al-Hemaid FM, Ali MA. Molecular authentication of the medicinal herb *Ruta graveolens* (Rutaceae) and an adulterant using nuclear and chloroplast DNA markers. *Genetics and molecular research : GMR*. 2011;10(4):2806-16.
16. Pollio A, De Natale A, Appetiti E, Aliotta G, Touwaide A. Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (Rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *J Ethnopharmacol*. 2008;116(3):469-82.
17. Farmacopéia Homeopática Brasileira. 2011. p. 364.
18. Reis KB. Extrato padronizado de *Ruta graveolens* L.: Avaliação de seu potencial no controle da Brusone em arroz. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2013.
19. Silva RAD. Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. Brasil Decreto nº 17.509 de 04 de novembro de 1926. p. 1149.
20. Duarte MR. Ilustração de caracteres microscópicos de drogas vegetais para o controle de qualidade farmacognóstico II. *Echinodorus macrophyllus* e *Ruta graveolens*. *Visão Acadêmica*. 2007;8(2):5-10.
21. Haddouchi F, Chaouche TM, Zaouali Y, Ksouri R, Attou A, Benmansour A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*. 2013;141(1):253-8.
22. Nazish I, Kaskoos RA, Mir SR, Amin S, Ali M. Preliminary pharmacognostical standardisation of *Ruta graveolens* L. aerial parts. *Research Journal of Medicinal Plant*. 2009;3(2):41-4.
23. Brasil. Farmacopéia Brasileira. In: Sanitária ANdV, editor. Brasília2010. p. 541.
24. Alves BHP, Santos VF. Análise da atividade antioxidante de diferentes extratos foliares de *Ruta graveolens*. Goiás: 6º Seminário de Iniciação Científica Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia. ; 2011.

25. Farias MR. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. 2ª ed. UFSC Ed, editor. Florianópolis/SC2000. 821 p.
26. Rózsa Z, Mester I, Reisch J, Szendrei K. Naphthoherniarin: an unusual coumarin derivative from *Ruta graveolens*. *Planta Med.* 1989;55(1):68-9.
27. Ramos DD. Avaliação do perfil cromatográfico e da presença de psoraleno, rutina e quercetina em *Ruta graveolens*. Fortaleza/CE: Anais da 57ª Reunião Anual da SBPC; 2005.
28. Lima EdO, Farias NMP, Souza EL, Santos BHC. Antibacterial properties of essential oils from medicinal plants. *Rev bras ciênc saúde.* 2003;7(3):251-8.
29. Nogueira JCR, Diniz MDFM, Lima EO. In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. 2008;74(1):118-24.
30. De Feo V, De Simone F, Senatore F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry.* 2002;61(5):573-8.
31. Claßen B, Knobloch K. On the essential oils from the Rue (*Ruta graveolens* L.). Über die ätherischen Öle der Weinraute (*Ruta graveolens* L). 1985;181(1):28-31.
32. Fredj MBH, Marzouk B, Chraief I, Boukef K, Marzouk Z. Analysis of Tunisian *Ruta graveolens* L. oils from Jemmel. *Journal of Food, Agriculture and Environment.* 2007;5(1):52-5.
33. Malik AA, Mir SR, Ahmad J. *Ruta graveolens* L. essential oil composition under different nutritional treatments. *Middle East Journal of Scientific Research.* 2013;17(7):885-90.
34. Belém LF, Lima EO, Barbosa Filho JM, Silva Filho RN, Lima JR, Casimiro GS. Anti-fungal activity of essential oils “in vitro” against strains of *Malassezia furfur*. 2003;6(1):77-83.
35. Djilani A, Legseir B, Soulimani R, Dicko A, Younos C. New extraction technique for alkaloids. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 2006;17(3):518-20.
36. Muñoz D K, Londoño L JA, Arango A GJ, Sierra R JA, Bravo M KE. Effect of extraction technique of *Ruta graveolens* on antityrosinase activity and correlation amongst inhibitory activity, phenolic compounds content and cytotoxicity. *Vitae.* 71-7.

37. Andreani DIK, Ferlin CR, Nakao TH, Borges AFS, Andreani Júnior R. In vitro antimicrobial activity of medicinal plant extracts in the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Full dent sci*.3(12):470-4.
38. Figueroa-Valverde L, Díaz-Cedillo F, Camacho-Luis A, López Ramos M. Induced effects by *Ruta graveolens* L., Rutaceae, *Cnidoscolus chayamansa* McVaugh, Euphorbiaceae, and *Citrus aurantium* L., Rutaceae, on glucose, cholesterol and triacylglycerides levels in a diabetic rat model. 2009;19(4):898-907.
39. Frias DFR, Kozusny-Andreani DI. In vitro evaluation of the antifungal activity of plant extracts and eucalyptus oil on *Trichophyton mentagrophytes*. 2009;11(2):216-20.
40. Meléndez M, Alvarado R. *Antihyperglycaemic Effect of the Rue (Ruta graveolens) Methanol Extract in an Experimental Model of Hyperglycemic Rats*. *Rev Fac Cienc Vet*.52(2):119-26.
41. Ramos MFDS, Santos EP, Silva AB, Leitão AC, Dellamora-Ortiz GM. Evaluation of phototoxic and mutagenic activity of propolis, *Aloe spp.* and *Hamamelis virginiana* extracts. 2005;26(2):105-11.
42. Serrano-Gallardo LB, Soto-Domínguez A, Ruiz-Flores P, Nava-Hernández MP, Morán-Martínez J, García-Garza R, et al. Toxic Effect of Aqueous Extract of *Ruta graveolens* from the North of Mexico on the Liver of Wistar Rat. *Int j morphol*. 2013;31(3):1041-8.
43. Adersen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jäger AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;104(3):418-22.
44. Chiu KW, Fung AYL. The cardiovascular effects of green beans (*Phaseolus aureus*), common rue (*Ruta graveolens*), and kelp (*Laminaria japonica*) in rats. *General Pharmacology: The Vascular System*. 1997;29(5):859-62.
45. de Freitas TG, Augusto PM, Montanari T. Effect of *Ruta graveolens* L. on pregnant mice. *Contraception*. 2005;71(1):74-7.
46. Diwan R, Malpathak N. Furanocoumarins: Novel topoisomerase I inhibitors from *Ruta graveolens* L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009;17(19):7052-5.

47. Gandhi M, Lal R, Sankaranarayanan A, Lal Sharma P. Post-coital antifertility activity of *Ruta graveolens* in female rats and hamsters. *Journal of Ethnopharmacology*. 1991;34(1):49-59.
48. Grundon MF, Okely HM. A new quinoline alkaloid from *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*. 1979;18(10):1768-9.
49. Abyshev AZ, Gindin VA, Kerimov YB, Ismailov ES, Agaev EM, Isaev NY. Furocoumarins of *Ruta graveolens*. *Chemistry of Natural Compounds*. 1992;28(3-4):382-3.
50. Lagarto Parra A, Silva Yhebra R, Guerra Sardiñas I, Iglesias Buela L. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*. 2001;8(5):395-400.
51. Paulini H, Eilert U, Schimmer O. Mutagenic compounds in an extract from *Rutae Herba* (*Ruta graveolens* L.). I. Mutagenicity is partially caused by furoquinoline alkaloids. *Mutagenesis*. 1987;2(4):271-3.
52. Stashenko EE, Acosta R, Martinez JR. High-resolution gas-chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical-fluid extraction from Colombian rue (*Ruta graveolens* L.). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2000;43(1-3):379-90.
53. [The fatty acid composition of *Ruta graveolens* seed oil and its biological activity]. *Georgian Med News*. 2013(224):82-4.
54. Saieed P, Reza RM, Abbas D, Seyyedvali R, Aliasghar H. Inhibitory effects of *Ruta graveolens* L. extract on guinea pig liver aldehyde oxidase. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 2006;54(1):9-13.
55. Ratheesh M, Sindhu G, Helen A. Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. *Inflammation Research*. 2013;62(4):367-76.
56. Rollinger JM, Schuster D, Danzl B, Schwaiger S, Markt P, Schmidtke M, et al. In silico target fishing for rationalized ligand discovery exemplified on constituents of *Ruta graveolens*. *Planta Medica*. 2009;75(3):195-204.
57. Ratheesh M, Helen A. Oral administration of alkaloid fraction from *Ruta graveolens* inhibits oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic rabbits. *Pharmaceutical Biology*. 2013;51(12):1552-8.

58. Réthy B, Zupkó I, Minorics R, Hohmann J, Ocsóvszki I, Falkay G. Investigation of cytotoxic activity on human cancer cell lines of arborinine and furanoacridones isolated from *Ruta graveolens*. *Planta Med.* 2007;73(1):41-8.
59. Paszkiewicz M, Orlita A, Dziabas A, Gołębiowski M, Łojkowska E, Szafranek J, et al. Simplex optimized LC analysis of plant coumarins and furanocoumarins. *Chromatographia.* 2008;67(7-8):653-7.
60. Ivanova A, Kostova I, Navas HR, Villegas J. Volatile components of some rutaceae species. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences.* 2004;59(3-4):169-73.
61. Maciel MRA, Guarim Neto G. *Juruena local healers and the plants and verbal blessings they use for healing in Mato Grosso, Brazil.* *Bol Mus Para Emílio Goeldi Ciênc Hum.* 61-77.
62. Ramos MFS, Santos EP, Silva AB, Leitão AC, Dellamora-Ortiz GM. Evaluation of phototoxic and mutagenic activity of propolis, *Aloe spp.* and *Hamamelis virginiana* extracts. *Rev ciênc farm básica Apl.* 26(2):105-11.
63. Guerra MO, Andrade ATL. Contraceptive effects of native plants in rats. *Contraception.* 1978;18(2):191-9.
64. Paulini H, Popp R, Schimmer O, Ratka O, Roder E. *Isogravacridonchlorine: A potent and direct acting frameshift mutagen from the roots of Ruta graveolens.* *Planta Medica.* 1991;57(1):59-61.
65. Das H, Raghav S, Gupta B, Das RH. Anti-inflammatory compounds from medicinal plant *Ruta graveolens*. 2007. p. 389-98.
66. Rollinger JM, Schuster D, Danzl B, Schwaiger S, Markt P, Schmidtke M, et al. In silico target fishing for rationalized ligand discovery exemplified on constituents of *Ruta graveolens* L. (*Planta Medica* (2009) 75, (195-204)). *Planta Medica.* 2009;75(3):293.
67. Sailani MR, Moeini H. Effect of *Ruta graveolens* and *Cannabis sativa* alcoholic extract on spermatogenesis in the adult wistar male rats. *Indian Journal of Urology.* 2007;23(3):257-60.
68. Varamini P, Soltani M, Ghaderi A. Cell cycle analysis and cytotoxic potential of *Ruta graveolens* against human tumor cell lines. *Neoplasma.* 2009;56(6):490-3.

69. Salib JY, El-Toumy SA, Hassan EM, Shafik NH, Abdel-Latif SM, Brouard I. New quinoline alkaloid from *Ruta graveolens* aerial parts and evaluation of the antifertility activity. *Nat Prod Res*. 2014.
70. Kamiński M, Kartanowicz R, Kamiński MM, Królicka A, Sidwa-Gorycka M, Łojkowska E, et al. HPLC-DAD in identification and quantification of selected coumarins in crude extracts from plant cultures of *Ammi majus* and *Ruta graveolens*. *Journal of Separation Science*. 2003;26(14):1287-91.
71. Khor V, Nayeypour M, Semnani S, Golalipour MJ, Marjani A. Prolongation of AV nodal refractoriness by *Ruta graveolens* in isolated rat hearts. Potential role as an anti-arrhythmic agent. *Saudi Med J*. 2008;29(3):357-63.
72. Lima EdO, Farias NMP, Souza EL, Santos BHC. Antibacterial properties of essential oils from medicinal plants. *Rev bras ciênc saúde*. 2003;7(3):251-8.
73. Al-Nimer MSM, Ali EA. Aqueous extract of *Salvia officinalis* and *Ruta graveolens*: Potential source of reactive nitrogen species. *International Journal of Green Pharmacy*. 2010;4(3):189-92.
74. Ahmed OM, Moneim AA, Yazid IA, Mahmoud AM. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia Croatica*. 2010;39(1):15-35.
75. Paszkiewicz M, Orlita A, Dziabas A, Gołębiowski M, Łojkowska E, Szafranek J, et al. Simplex optimized LC analysis of plant coumarins and furanocoumarins. *Chromatographia*. 2008;67(7-8):653-7.
76. Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventós R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. Volume 299: Academic Press; 1999. p. 152-78.
77. Katagi MS, Kakoti BB, Bhuyan B, Rajkumari A, Rajak P. Garden rue inhibits the arachidonic acid pathway, scavenges free radicals, and elevates FRAP: role in inflammation. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 2014;12(3):172-9.
78. Pandey P, Mehta A, Hajra S. Antidiarrhoeal activity of ethanolic extracts of *Ruta graveolens* leaves and stem. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012;5(4):65-8.

79. Bodendiek SB, Mahieux C, Hänsel W, Wulff H. 4-Phenoxybutoxy-substituted heterocycles - A structure-activity relationship study of blockers of the lymphocyte potassium channel Kv1.3. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009;44(5):1838-52.
80. Raghav SK, Gupta B, Agrawal C, Goswami K, Das HR. Anti-inflammatory effect of *Ruta graveolens* L. in murine macrophage cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;104(1-2):234-9.
81. Raghav SK, Gupta B, Shrivastava A, Das HR. Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase and IL-1 β through suppression of NF- κ B activation by 3-(1-1-dimethyl-allyl)-6-hydroxy-7-methoxy-coumarin isolated from *Ruta graveolens* L. *European Journal of Pharmacology*. 2007;560(1):69-80.
82. Adam M, Dobiás P, Eisner A, Ventura K. Extraction of antioxidants from plants using ultrasonic methods and their antioxidant capacity. *Journal of Separation Science*. 2009;32(2):288-94.
83. Amaral ACF, de Silva JRA, Falcão DQ, Ferreirinha LG, dos Santos AR, Araújo RB, et al. Chemical analysis of toxic principles in preparations of *ruta graveolens* and *petiveria alliacea*. 2011. p. 698-704.
84. Bohidar S, Pattanaik S, Thiruvananthapuram M. Improved furanocoumarin production in *Ruta graveolens* L. regenerated via *in vitro* stem internode cultures. *Plant Biotechnology Reports*. 2013;7(3):399-405.
85. Chen CC, Huang YL, Huang FI, Wang CW, Ou JC. Water-soluble glycosides from *Ruta graveolens*. *Journal of Natural Products*. 2001;64(7):990-2.
86. Ghosh S, Bishayee K, Khuda-Bukhsh AR. Graveoline Isolated from Ethanolic Extract of *Ruta graveolens* Triggers Apoptosis and Autophagy in Skin Melanoma Cells: A Novel Apoptosis-Independent Autophagic Signaling Pathway. *Phytotherapy Research*. 2013.
87. Prashanth Kumar V, Ravishankara MN, Padh H, Rajani M. High-performance thin-layer chromatographic method for estimation of rutin in medicinal plants. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*. 2003;16(5):386-9.
88. Wu TS, Shi LS, Wang JJ, Lou SC, Chang HC, Chen YP, et al. Cytotoxic and antiplatelet aggregation principles of *Ruta graveolens*. *Journal of the Chinese Chemical Society*. 2003;50(1):171-8.

89. Bodendiek SB, Mahieux C, Hänsel W, Wulff H. 4-Phenoxybutoxy-substituted heterocycles – A structure–activity relationship study of blockers of the lymphocyte potassium channel Kv1.3. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009;44(5):1838-52.
90. Ivanova A, Mikhova B, Najdenski H, Tsvetkova I, Kostova I. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*. *Fitoterapia*. 2005;76(3–4):344-7.
91. Stafford GI, Pedersen PD, Jäger AK, Van Staden J. Monoamine oxidase inhibition by southern African traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*. 2007;73(3):384-90.
92. Kong YC, Lau CP, Wat KH, Ng KH, But PP, Cheng KF, et al. Antifertility principle of *Ruta graveolens*. *Planta Med*. 1989;55(2):176-8.
93. Preethi KC, Nair CK, Kuttan R. Clastogenic potential of *Ruta graveolens* extract and a homeopathic preparation in mouse bone marrow cells. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2008;9(4):763-9.
94. Schimmer O, Kiefer J, Paulini H. Inhibitory effects of furocoumarins in *Salmonella typhimurium* TA98 on the mutagenicity of dictamnine and rutacridone, promutagens from *Ruta graveolens* L. *Mutagenesis*. 1991;6(6):501-6.
95. Fadlalla K, Watson A, Yehualaeshet T, Turner T, Samuel T. *Ruta graveolens* extract induces DNA damage pathways and blocks Akt activation to inhibit cancer cell proliferation and survival. *Anticancer Research*. 2011;31(1):233-41.
96. Kamiński M, Kartanowicz R, Kamiński MM, Królicka A, Sidwa-Gorycka M, Łojkowska E, et al. HPLC-DAD in identification and quantification of selected coumarins in crude extracts from plant cultures of *Ammi majus* and *Ruta graveolens*. *Journal of Separation Science*. 2003;26(14):1287-91.
97. van Huyssteen M, Milne PJ, Campbell EE, van de Venter M. Antidiabetic and cytotoxicity screening of five medicinal plants used by traditional african health practitioners in the nelson mandela metropole, South Africa. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*. 2011;8(2):150-8.
98. Schimmer O, Kühne I. Mutagenic compounds in an extract from *Rutae Herba* (*Ruta graveolens* L.). II. UV-A mediated mutagenicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* by furoquinoline alkaloids and furocoumarins present in a commercial tincture from *Rutae Herba*. *Mutat Res*. 1990;243(1):57-62.

99. Poutaraud A, Bourgaud F, Girardin P, Gontier E. Cultivation of rue (*Ruta graveolens* L., Rutaceae) for the production of furanocoumarins of therapeutic value. *Canadian Journal of Botany*. 2000;78(10):1326-35.
100. Steck W, Bailey BK, Shyluk JP, Gamborg OL. Coumarins and alkaloids from cell cultures of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*. 1971;10(1):191-4.
101. Zobel AM, Brown SA. *Dermatitis-inducing furanocoumarins on leaf surfaces of eight species of Rutaceous and Umbelliferous plants*. *Journal of Chemical Ecology*. 1990;16(3):693-700.
102. Souza RKD. *Etnofarmacologia de plantas medicinais do carrasco no nordeste do Brasil*.: Universidade Regional do Cariri; 2012.
103. Cortez LER, Jacomossi E, Cortez DAG. Survey of the medicinal plants used in popular medicine in Umuarama, Pr. *Arq ciências saúde UNIPAR*.3(2):97-104.
104. Pereira FL, Fernandes JM, Leite JPV. Ethnopharmacological survey: A selection strategy to identify medicinal plants for a local phytotherapy program. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012;48(2):299-313.
105. Sevigiani A, Jacomassi E. Survey of medicinal plants and their application in the country village Serra dos Dourados - Umuarama/PR. *Arq ciências saúde UNIPAR*.7(1):27-31.
106. Cartaxo SL, de Almeida Souza MM, de Albuquerque UP. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010;131(2):326-42.
107. Conway GA, Slocumb JC. Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New Mexicans. *Journal of Ethnopharmacology*. 1979;1(3):241-61.
108. Josabad Alonso-Castro A, Jose Maldonado-Miranda J, Zarate-Martinez A, Jacobo-Salcedo MdR, Fernández-Galicia C, Alejandro Figueroa-Zuñiga L, et al. Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, México. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;143(1):292-8.
109. Pandikumar P, Chellappandian M, Mutheeswaran S, Ignacimuthu S. Consensus of local knowledge on medicinal plants among traditional healers in Mayiladumparai block of Theni District, Tamil Nadu, India. *Journal of Ethnopharmacology*. 2011;134(2):354-62.

110. González-Hernández MP, Romero R, Rodríguez-Gutián M, Rigueiro A. Medicinal use of some plants in Galicia (NW Spain). 2004. p. 63-75.
111. Lagarto Parra A, Silva Yhebra R, Guerra Sardiñas I, Iglesias Buela L. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD_{50} value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*. 2001;8(5):395-400.
112. Gutiérrez-Pajares JL, Zúñiga L, Pino J. *Ruta graveolens* aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development. *Reproductive Toxicology*. 2003;17(6):667-72.
113. Al-Okbi SY, El-Sayed EM, Ammar NM, El-Sayed NK, Abou-El Kassem LT. Effect of *Ruta graveolens* L. and *Euphorbia peplus* L. anti-inflammatory extracts on nutritional status of rats and the safety of their use. *Indian J Exp Biol*. 2002;40(1):45-8.
114. Freire RB, Borba HR, Coelho CD. *Ruta graveolens* L. toxicity in *Vampirolepis nana* infected mice. *Indian Journal of Pharmacology*. 2010;42(6):345-50.
115. Paulini H, Schimmer O. Mutagenicity testing of rutacridone epoxide and rutacridone, alkaloids in *Ruta graveolens* L., using the Salmonella/microsome assay. *Mutagenesis*. 1989;4(1):45-50.
116. Gibka J, Kunicka-Styczyńska L, Gliński M. Antimicrobial activity of undecan-2-one, undecan-2-ol and their derivatives. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 2009;12(5):605-14.
117. Rahim F, Saki G, Bazrafkan M. Effect of alcohol extracts of the *Ruta graveolens* L. on the count, motility and in vitro fertilization capacity of rat's sperm. *Asian Journal of Plant Sciences*. 2010;9(1):63-6.
118. Sallal AKJ, Alkofahi A. Inhibition of the haemolytic activities of snake and scorpion venoms in vitro with plant extracts. *Biomedical Letters*. 1996;53(212):211-5.
119. Trovato A, Monforte MT, Rossitto A, Forestieri AM. In vitro cytotoxic effect of some medicinal plants containing flavonoids. *Bollettino Chimico Farmaceutico*. 1996;135(4):263-6.
120. Harsha SN, Latha BV. In vitro antioxidant and in vitro anti inflammatory activity of *Ruta graveolens* methanol extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2012;5(1):32-5.

121. Stafford GI, Pedersen PD, Jäger AK, Van Staden J. Monoamine oxidase inhibition by southern African traditional medicinal plants. *South African Journal of Botany*. 2007;73(3):384-90.
122. Wszelaki N, Kuciun A, Kiss A. Screening of traditional European herbal medicines for acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity. *Acta Pharmaceutica*. 2010;60(1):119-28.
123. Zaidi SF, Muhammad JS, Shahryar S, Usmanghani K, Gilani A-H, Jafri W, et al. Anti-inflammatory and cytoprotective effects of selected Pakistani medicinal plants in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;141(1):403-10.
124. Atta AH, Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998;60(2):117-24.
125. Alkofahi A, Al-Hamood MH, Elbetieha AM. Antifertility evaluation of some medicinal plants in male and female mice. *Archives of STD/HIV Research*. 1996;10(3):189-96.
126. Ratheesh M, Shyni GL, Sindhu G, Helen A. Inhibitory effect of *Ruta graveolens* L. on oxidative damage, inflammation and aortic pathology in hypercholesteromic rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2011;63(3):285-90.
127. Halvaei I, Roodsari HR, Harat ZN. Acute Effects of *Ruta graveolens* L. on Sperm Parameters and DNA Integrity in Rats. *J Reprod Infertil*. 2012;13(1):33-8.
128. Bazrafkan M, Panahi M, Saki G, Ahangarpour A, Zaeimzadeh N. Effect of aqueous extract of *Ruta graveolens* on spermatogenesis of adult rats. *International Journal of Pharmacology*. 2010;6(6):926-9.
129. Melito AL, Bernardi MM, Flório JC. Embriofetotoxicity of crude extract of *Ruta graveolens* L. in mice. 2003;16(2):63-70.
130. Al-Mahmoud MS, Elbetieha A, Al-Muhur RA. Anticonceptive and antifertility activities of various *Ruta graveolens* extracts in female rats. *Acta Pharmaceutica Turcica*. 2003;45(3):203-12.

131. Chiu KW, Fung AYL. The hypotensive effects of green bean (*Phaseolus aureus*), common rue (*Ruta graveolens*) and kelp (*Laminaria japonica*) in rats. *Phytotherapy Research*. 1997;11(3):203-6.
132. Keihanian F, Rostampour Vajari M, Saeidynia A, Elmieh AR. Effect of *Ruta graveolens* hydro-alcoholic extract on pentylenetetrazole-induced seizure in male mice. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2012;14(4):30-6.
133. Daradka H, Batiha M. Antiandrogenic activity of *Ruta graveolens* L. in female albino rats. *Asian Journal of Chemistry*. 2006;18(3):2280-4.
134. Elbetieha A, Al-Hamood MH, Alkofahi A. Anti-implantation potential of some medicinal plants in female rats. *Archives of STD/HIV Research*. 1996;10(3):181-8.
135. Khouri NA, El-Akawi Z. Antiandrogenic activity of *Ruta graveolens* L in male Albino rats with emphasis on sexual and aggressive behavior. *Neuroendocrinology Letters*. 2005;26(6):823-9.
136. Nasirinezhad F, Khoshnevis FM, Parivar K, Amin G. Antifertility effect of aqueous extract of arial part of *Ruta graveolens* on immature female Balb/C mice. *Physiology and Pharmacology*. 2009;13(3):279-87.
137. Ratheesh M, Helen A. Anti-inflammatory activity of *Ruta graveolens* Linn on carrageenan induced paw edema in wistar male rats. *African Journal of Biotechnology*. 2007;6(10):1209-11.
138. Prakash AO, Saxena V, Shukla S, Tewari RK, Mathur S, Gupta A, et al. Anti-implantation activity of some indigenous plants in rats. *Acta Europaea Fertilitatis*. 1985;16(6):441-8.
139. Park SH, Sim YB, Kim SM, Lee JK, Lim SS, Kim JK, et al. Antinociception effect and mechanism of *Ruta graveolens* L. in mice. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 2010;53(5):593-7.
140. Ratheesh M, Shyni GL, Helen A. Methanolic extract of *Ruta graveolens* L. inhibits inflammation and oxidative stress in adjuvant induced model of arthritis in rats. *Inflammopharmacology*. 2009;17(2):100-5.
141. Ratheesh M, Shyni GL, Sindhu G, Helen A. Protective effects of isolated polyphenolic and alkaloid fractions of *Ruta graveolens* L. on acute and chronic models of inflammation. *Inflammation*. 2010;33(1):18-24.

- 142.** Toserkani A, Razi Jalali M, Najafzaheh H. Changes of lipid profiles, glucose, and hemogram after administration of *Ruta graveolens* extract in diabetic rats. *Comparative Clinical Pathology*. 2012;21(6):1587-92.
- 143.** Salem AM, Sabry GM, Ahmed HH, Hussein AA, Kotob SE. Amelioration of neuroinflammation and apoptosis characterizing Alzheimer's disease by natural products. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2013;5(SUPPL. 2):87-94.
- 144.** Rauwald HW, Brehm O, Odenthal KP. Screening of nine vasoactive medicinal plants for their possible calcium antagonistic activity. Strategy of selection and isolation for the active principles of *Olea europaea* and *Peucedanum ostruthium*. *Phytotherapy Research*. 1994;8(3):135-40.
- 145.** Grigorjev CA, Brizuela NY. [Effects of ruta SSP on the activity of the smooth gastrointestinal muscle isolated of rat]. 2010;67(2):77-80.
- 146.** Bohuslavizki K, Hinck-Kneip C, Kneip A, Koppenhofer E, Reimers A. Reduction of MS-related scotomata by a new class of potassium channel blockers from *Ruta graveolens*. *Neuro-Ophthalmology [Internet]*. 1993; 13(4):[191-8 pp.]. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/065/CN-00225065/frame.html>.
- 147.** Sevigiani A, Jacomassi E. Survey of medicinal plants and their application in the country village Serra dos Dourados - Umuarama/PR. *Arq ciências saúde UNIPAR*.7(1):27-31.
- 148.** Toriani ALT, Oliveira L. *Ruta graveolens* L. (arruda) - O conhecimento e suas particularidades. In: "Espírita" FI, editor. Curitiba/PR2006. p. 70.
- 149.** Martins ER, Castro DM, Castellani DC, Dias JE. Plantas Medicinais. Viçosa/MG: Editora UFV; 1998. p. 220.
- 150.** Carvalho ACB, Balbino EE, Maciel A, Perfeito JPS. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2008;18:314-9.
- 151.** Almeida MZ. Plantas Medicinais. EDUFBA; 2000.
- 152.** Duniau MM. Plantas Medicinais da Magia à Ciência. Rio de Janeiro: BRASPORT; 2003. 146 p.



**DISQUE
SAÚDE 136**

Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde
bvsms.saude.gov.br



MINISTÉRIO DA
SAÚDE

**Governo
Federal**