

MINISTÉRIO DA SAÚDE

MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Ruta graveolens* L. (Arruda)

Organização: Ministério da Saúde e Anvisa

Fonte do recurso: Ação 20K5 (DAF/SCTIE/MS)/2013

Brasília

2015

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fotos da espécie <i>Ruta graveolens</i> L.	01
Figura 2 – Ilustração das estruturas da espécie <i>R. graveolens</i> L.	03
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>	05
Figura 4 – Estrutura química e peso molecular das quatro principais furanocumarinas presentes na <i>R. graveolens</i> L.	09
Figura 5 – Jean-Baptiste Debret: O vendedor de arruda. Litogravura do tomo III da Viagem Pitoresca e Histórica ao Brasil	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tipos de derivado vegetal e seus componentes químicos descritos	12
Tabela 2 – Ensaios de toxicidade subcrônica de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	20
Tabela 3 – Ensaios de toxicidade <i>in vitro</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	24
Tabela 4 – Estudos farmacológicos <i>in vitro</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	30
Tabela 5 – Estudos farmacológicos <i>in vivo</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	62
Tabela 6 – Ensaios <i>ex vivo</i> de preparações obtidas da espécie <i>R. graveolens</i>	94
Tabela 7 – Patentes selecionadas da espécie <i>R. graveolens</i> que apresentaram aplicabilidade médica	102

LISTA DE ABREVIATURAS

AChE – Acetilcolinesterase
ALT – Alanina aminotransferase
AST – Aspartato aminotransferase
ATCI – Iodeto de acetiltiocolina
BuChE – Butilcolinesterase
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 - *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay*
H₂SO₄ – Ácido sulfúrico
hCG - Gonadotrofina coriônica humana
HCl – Ácido clorídrico
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
LC₅₀ – Concentração letal 50%
LOX – Lipooxygenase
m/m – Massa/massa
MAO – Monoaminoxidase
MPLC – Cromatografia líquida de média pressão
MTT – (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
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	01
1.1 NOMENCLATURA BOTÂNICA	01
1.2 SINONÍMIA BOTÂNICA	01
1.3 FAMÍLIA	01
1.4 FOTO DA PLANTA	01
1.5 NOMENCLATURA BOTÂNICA	02
1.6 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	02
1.7 OUTRAS ESPÉCIES CORRELATAS DO GÊNERO, NATIVAS OU EXÓTICAS ADAPTADAS	02
2 INFORMAÇÕES BOTÂNICAS	02
2.1 PARTE UTILIZADA / ÓRGÃO VEGETAL	02
2.2 DESCRIÇÃO MACROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	03
2.3 DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA DA PARTE DA PLANTA UTILIZADA	04
2.4 INFORMAÇÕES SOBRE POSSÍVEIS ESPÉCIES VEGETAIS SIMILARES QUE POSSAM SER UTILIZADAS COMO ADULTERANTES	04
3 INFORMAÇÕES DE CONTROLE DE QUALIDADE	06
3.1 ESPÉCIE VEGETAL / DROGA VEGETAL	06
3.1.1 Caracteres organolépticos	06
3.1.2 Requisitos de pureza	06
3.1.2.1 Perfil de contaminantes comuns	06
3.1.2.2 Microbiológico	06
3.1.2.3 Teor de umidade	06
3.1.2.4 Metal pesado	07
3.1.2.5 Resíduos químicos	07
3.1.2.6 Cinzas	07
3.1.3 Granulometria	07
3.1.4 Prospeção fitoquímica	08
3.1.5 Testes físico-químicos	08
3.1.6 Testes de identificação	08
3.1.7 Testes de quantificação	09
3.1.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	09
3.1.8 Outras informações úteis para o controle de qualidade	09
3.2 DERIVADO VEGETAL	10
3.2.1 Descrição	10
3.2.2 Método de obtenção	10
3.2.3 Caracteres organolépticos	11
3.2.4 Requisitos de pureza	11
3.2.4.1 Perfil de contaminantes comuns	11
3.2.4.2 Microbiológico	11
3.2.4.3 Teor de umidade	11
3.2.4.4 Metal pesado	11
3.2.4.5 Resíduos químicos	11
3.2.5 Testes físico-químicos	11
3.2.6 Prospeção fitoquímica	12

3.2.7 Testes de identificação	12
3.2.8 Testes de quantificação	12
3.2.8.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	12
3.3 PRODUTO FINAL	16
3.3.1 Forma farmacêutica	16
3.3.2 Testes específicos por forma farmacêutica	16
3.3.3 Requisitos de pureza	16
3.3.4 Resíduos químicos	17
3.3.5 Prospeção fitoquímica	17
3.3.6 Testes de identificação	17
3.3.7 Testes de quantificação	17
3.3.7.1 Componentes químicos e suas concentrações: descritos e majoritários, ativos ou não	17
4. INFORMAÇÕES DE SEGURANÇA E EFICÁCIA	17
4.1 USOS POPULARES / TRADICIONAIS	17
4.2 PRESENÇA NA NOTIFICAÇÃO DE DROGAS VEGETAIS	18
4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS	18
4.3.1 Estudos toxicológicos	18
4.3.1.1 Toxicidade aguda	18
4.3.1.2 Toxicidade subcrônica	19
4.3.1.3 Toxicidade crônica	22
4.3.1.4 Genotoxicidade	23
4.3.1.5 Toxicologia in vitro	24
4.3.1.6 Sensibilização dérmica	29
4.3.1.7 Irritação cutânea	29
4.3.1.8 Irritação ocular	29
4.3.2 Estudos farmacológicos	29
4.3.2.1 Ensaios in vitro	29
4.3.2.2 Ensaios in vivo	62
4.3.2.3 Ensaios ex vivo	93
4.4 ESTUDOS CLÍNICOS	97
4.4.1 Fase I	97
4.4.2 Fase II	97
4.4.3 Fase III	97
4.4.4 Fase IV	97
4.4.5 Estudos observacionais	97
4.5 RESUMO DAS AÇÕES E INDICAÇÕES POR DERIVADO DE DROGA ESTUDADO	98
4.5.1 Vias de Administração	98
4.5.2 Dose Diária	98
4.5.3 Posologia (Dose e Intervalo)	98
4.5.4 Período de Utilização	98
4.5.5 Contra Indicações	99
4.5.6 Grupos de Risco	99
4.5.7 Precauções de Uso	99
4.5.8 Efeitos Adversos Relatados	99
4.5.9 Interações Medicamentosas	99
4.5.9.1 Descritas	99
4.5.9.2 Potenciais	100

4.5.10 Informações de Superdosagem	100
4.5.10.1 <i>Descrição do quadro clínico</i>	100
4.5.10.2 <i>Ações a serem tomadas</i>	100
5. INFORMAÇÕES GERAIS	100
5.1 FORMAS FARMACÊUTICAS / FORMULAÇÕES DESCRITAS NA LITERATURA	100
5.2 PRODUTOS REGISTRADOS NA ANVISA E OUTRAS AGÊNCIAS REGULADORAS	100
5.3 EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO	101
5.4 ROTULAGEM	101
5.5 MONOGRAFIAS EM COMPÊNDIOS OFICIAIS E NÃO OFICIAIS	101
5.6 PATENTES SOLICITADAS PARA A ESPÉCIE VEGETAL	101
5.7 DIVERSOS	104
REFERÊNCIAS	106
APÊNDICE A – Protocolo de pesquisa	117

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 1600 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).

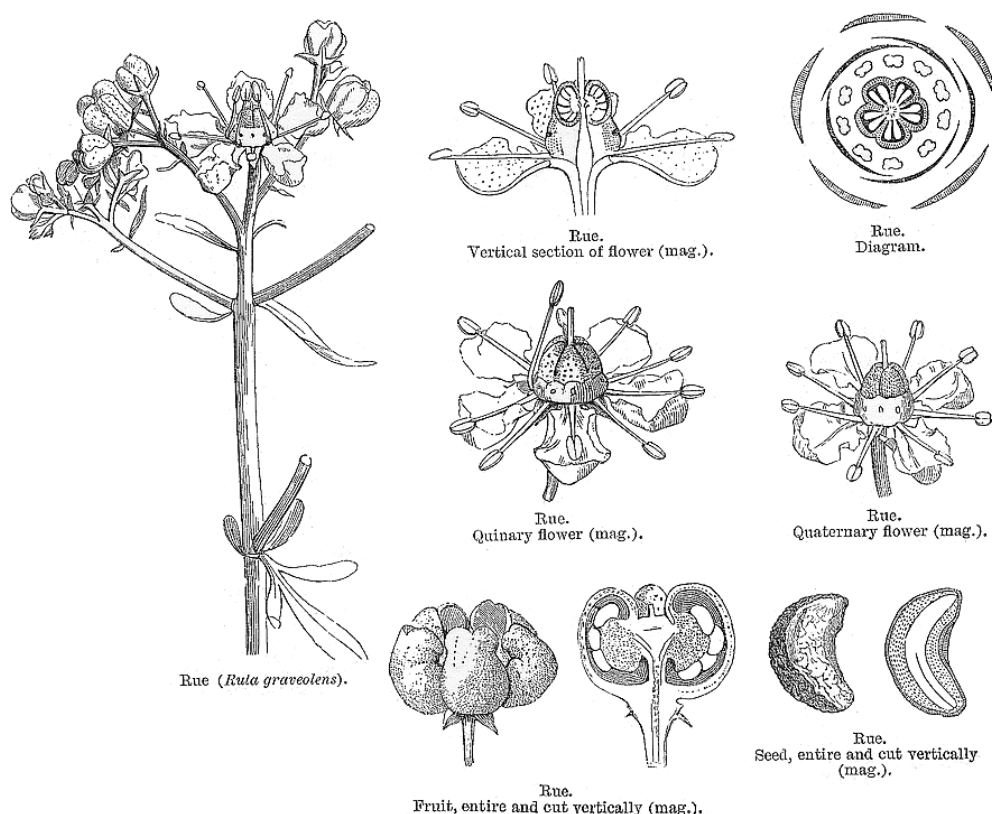


Figura
2 – Ilustração das estruturas da espécie *R. graveolens*. Fonte: DELTA – DEscription Language for Taxonomy (<http://delta-intkey.com/>)

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 apostado 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* se trata 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* se diferencia 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 se caracteriza por não ter alcaloides e ser a variedade mais rica em cumarinas (12, 21).

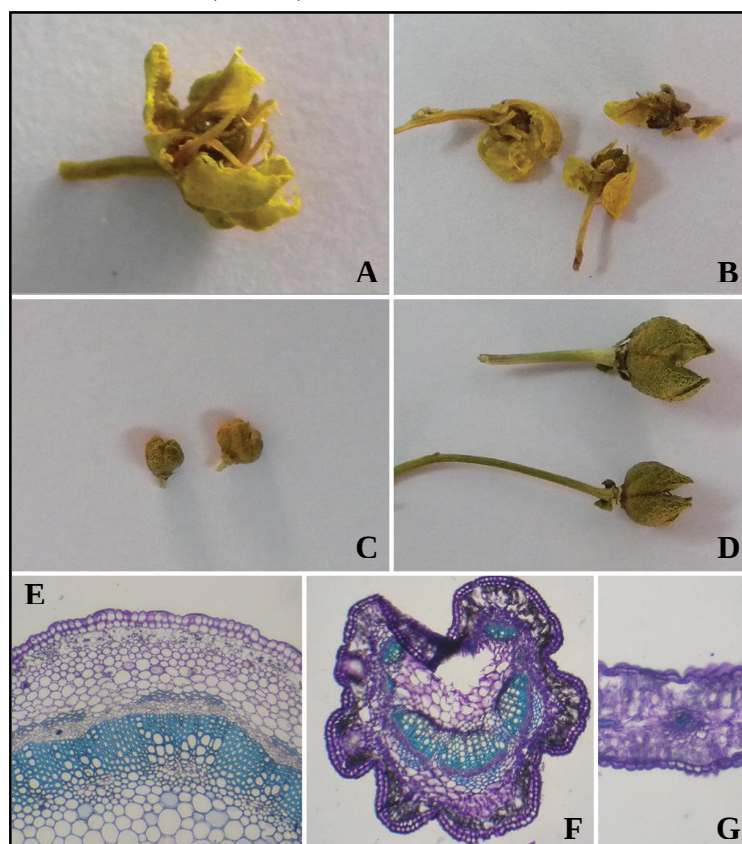


Figura 3 – Estruturas macro e microscópicas das espécies *R. graveolens* e *R. chalepensis* – (A) Flor e (B) Fruto da *R. graveolens*; (C) Flor e (D) Fruto da *R. chalepensis*; (E) Caule, (F) Pecíolo e (G) Folha de *R. graveolens*. FONTE: Identity and pharmacognosy of *Ruta graveolens* Linn (4).

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 um teor de umidade de $72,50\% \pm 0,59\%$ (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 Reis (18) 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% ± 0,10% (m/m), resultado semelhante ao encontrado por Nazish e colaboradores (22) 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 µm e pelo tamis de malha 106 µm, caracterizando-o como um 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 (R_f) das bandas dos padrões com a banda da amostra. Os resultados do trabalho demonstraram a presença de psoraleno (R_f 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 isopimpineline (13); Derivados cumarínicos – naftoherniarina (26); alcaloides, aminoácidos, flavonoides, carboidratos, fenóis, esteroides, resinas, proteínas, taninos, glicosídeos e mucilagem (22).

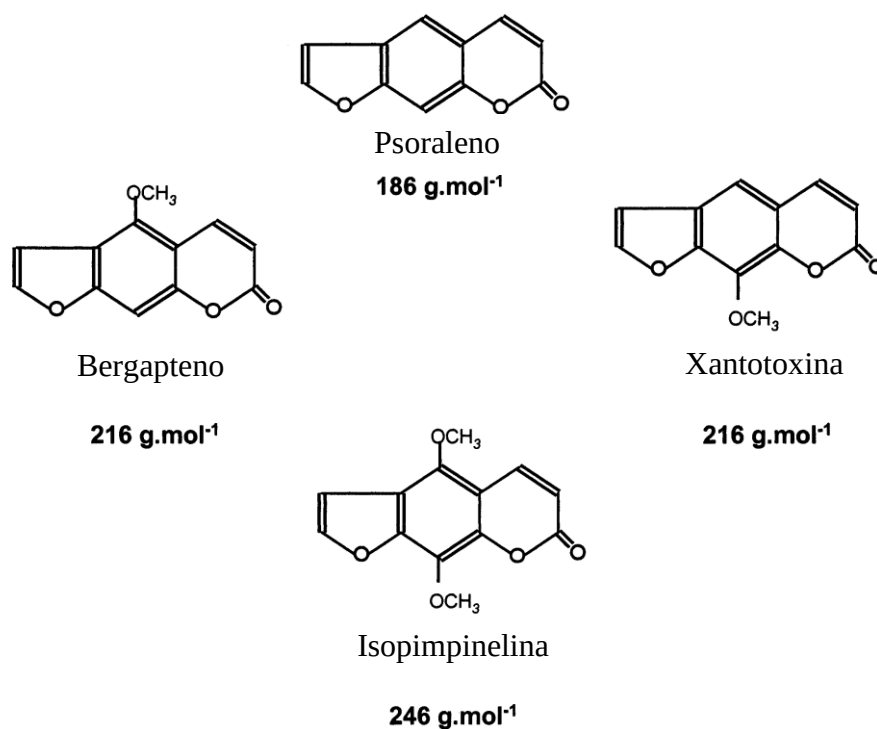


Figura 4 – Estrutura química e peso molecular das quatro principais furanocumarinas presentes na *R. graveolens*. FONTE: *Ruta graveolens* L.: a promising species for the production of furanocoumarins (13).

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 encontra-se descrita, porém não se caracteriza o derivado vegetal. Dentre 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), fluído 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 a 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 sonificador (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 simples (73) 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 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, esteróides, triterpenos, fenóis totais, carboidratos e resinas, os quais foram detectados por métodos clássicos de *screening* fitoquímico, pelo método de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton (76) 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, cromatografia líquida de média pressão (MPLC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), HPLC de fase reversa, cromatografia gasosa acoplada a espectrofotometria de massa e cromatografia líquida acoplada a 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)

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos (concentrações)	Autor
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%). Chalepensin (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)

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos (concentrações)	Autor
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, alcalóides, flavonóides, saponinas, esteróides, triterpenos, resinas e carboidratos	(74)
Extrato líquido	Arborinina, evoxantina, isogravacridona-clorina e monometil éter gravacridonediol	(58)
Extrato líquido	Compostos fenólicos	(36)
Extrato líquido	Flavonóides: 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, alcalóides dictaminas, γ -fagarina, kokusaginina e skimianina, 2-aryl-N-metil-4-quinolona	(48)
Extrato líquido	Cumarinas, terpenóides, alcalóides, flavonóides, 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 alcalóides acridona.	(91)
Extrato líquido	Fenóis totais	(77)
Extrato líquido	Alcalóides, flavonóides e saponinas	(71)
Extrato líquido	Chalepensis	(92)

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos (concentrações)	Autor
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	Alcalóides: 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, alcalóides, flavonóides e triterpenos esteróides.	(5)
Extrato líquido	Furanocumarinas: xantotoxina e bergapteno	(84)
Extrato líquido	Glicosídeos: 3,6-disinapoisucrose, cnidiosídeo, rutina, picraquassiosídeo, 3-sinapoil-6-feruloisucrose, metilcnidiosídeo e metilpicraquassiosídeo.	(85)
Extrato líquido	Composto Rg001 (3-(1,1-dimetil-alil)6-hidroxi-7-metoxi-cromen-2-ona) e Rg002 (3-(1,1-dimetil-alil)6-hidroxi-cromen-2-ona)	(65)
Extrato líquido	Furanocumarinas, carotenóides, clorofila, furanoquinolinas.	(95)
Extrato líquido	Graveolina	(86)
Extrato líquido	Escopoletina, umbeliferona, xantotoxina, psoraleno e bergapteno	(96)
Extrato líquido	Alcalóides, flavonóides, taninos e esteróides	(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, isopimpinellina,	(88)
Extrato líquido	Flavonóides: Quercetina e rutina	(54)
Extrato líquido	Skimiamina	(55)

Tipo de derivado vegetal	Componentes químicos (concentrações)	Autor
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: Alcalóide furanoacridona	(64)
Não disponível	Furanocumarinas	(99)
Não disponível	Rutina	(87)
Não disponível	Umbelliferona, escopoletina, psoraleno, xantotoxina, isopimpinellina, 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.

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 mal 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, antiséptico, anti-tétano (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 10/2010. Além disso, a Arruda também não se encontra na Instrução normativa nº 02 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”.

4.3 ESTUDOS NÃO-CLÍNICOS

4.3.1 Estudos toxicológicos

4.3.1.1 Toxicidade aguda

Após revisão da literatura, foram encontrados 2 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 3 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 realizado analisando 8 campos consecutivos, 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 ao 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 plug 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 Swiss <i>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 relacionados com a ação dos alcaloides presentes no extrato de arruda.	(112)

Via	Dose / Frequência	Metodologia	Espécie / Idade	Resultado	Referência
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 status 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 Swiss 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	(114)

aumentadas no grupo tratado com
100 mg/ Kg do extrato.

Via	Dose / Frequência	Metodologia	Espécie / Idade	Resultado	Referência
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 pêlos, 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 1000 mg/ Kg, 1 vez por dia, durante 30 dias. Um total de 30 animais, divididos em 5 grupos foram submetidos a 3 diferentes ensaios:

- a) Determinação do efeito clastogênico: Quarenta e oito 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. Um mínimo de 100 metáfases foram marcadas.
- 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 % de células aberrantes foi de 21 e 31% nas doses de 400 e 1000 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 1000 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 – Ensaio 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 2x10 ⁵ 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 ultrasom 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 as cepas avaliadas.	(51)
Mutagenicidade*	N.D.	N.D.	Cepas de <i>Salmonella typhimurium</i> / N.D.	N.D.	(64)

Ensaio	Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
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)

Ensaio	Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
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 à 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 em a escala utilizada (valores menores que 1000 µg/ mL).	(111)

Ensaio	Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Citotoxicidade	10, 20, 30, 40, ou 60 μ M	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 μ L 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	Linhagem de células humanas (ECACC, Salisbury, UK): MCF-7 (mama), HeLa (Cérvix) e A431 (pele) / 5000 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)

medida do conteúdo de DNA, 24 horas após os tratamentos, células HeLa foram tripsinizadas, lavadas com PBS e permeabilizadas com detergente por 30 min.

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 (5000 lux ¹) em meio mínimo, o qual foi suplementado com 50 µg de arginina hidrocloreida. Após um período de crescimento de 4-5 dias as suspensões de células de algas foram divididos em 100 mL e distribuídos em placas de Petri. Depois de adicionadas as soluções de	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 fotomutagenicas, porém suas atividades foram ligeiramente diferentes. O Bergapteno foi a furanocumarina	(98)

¹ **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.

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).

mais potente. A Dictaminina, a furoquinolina, com maior efeito, alcançando somente 10% do efeito do Bergapteno.

N.D. = Não disponível; * Somente o resumo 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	Referên
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 microorganismos ATCC (<i>American Type Culture Collection</i>), atividade inseticida em <i>Aconthoscelides obtectus</i> , atividade larvicida em <i>Aedes aegypti</i> / 10 ⁸ 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)

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 ultrasom.	(36)
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 através do aparecimento de halos de inibição,	<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)

mesurados com régua milimetrada.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 $36 \pm 0,5$ °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	Células L929 / N.D.	Os resultados mostram que as substâncias isoladas apresentam potente efeito	(89)

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.

bloqueador de canais de K⁺ -
Kv1.3.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antimicrobiana	Extrato ou Óleo essencial / Extrato (5000, 2500, 1250, 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, independente de idade e sexo, durante o período de três meses, sendo realizada coleta de material do ouvido comprometido, através de Swab. Para avaliação de atividade antibacteriana dos extratos e óleos essenciais, 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	Foram utilizados os microorganismos (bactérias ou fungos): <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> / N.D.	O extrato foi inativo e <i>P.</i> <i>aeruginosa</i> , 4 cepas de <i>S.</i> <i>aureus</i> e as cepas de <i>Candida</i> foram sensíveis ao óleo essencial de <i>R. graveolens</i> .	(29)

leveduras, através 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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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-nitrobenzólico (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 de	Acetilcolinesterase, iodeto de acetiltiocolina e ácido ditio-bis-nitrobenzólico (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)

cromatografia em camada delgada e após o desenvolvimento foram aspergidas com ATCI e DTNB. A silica foi aspergida com AChE e após 5 minutos, uma borda amarelada apareceu com pontos brancos para os compostos que inibiram a AChE.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 unidades 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	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)

estudada por meio da avaliação do relaxamento do plasmídeo em gel (supercolóide). 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%.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antioxidante	Extrato acetonitrílico / 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 "screening" da atividade biológica e para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Em placas esterilizadas, foi	<i>Malassezia furfur</i> / 20 cepas.	Não foram observados efeitos inibitórios do óleo essencial.	(34)

depositado 1 mL da suspensão do microorganismo. Em seguida, foi adicionado 21 mL do meio sólido fundido à 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 a 32 °C durante 10 dias.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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)
Antiinflamatória	Compostos isolados do extrato	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	Cultura de células de sangue total humano, macrófagos murinos (J-	O extrato e as substâncias isoladas Rg-001 e Rg-002 mostraram-se potentes	(65)

	metanólico / 500 µL/ mL.	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.	774) / Células de macrófagos 2x10 ⁶ células/ mL.	inibidores da produção de óxido nítrico.	
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)
Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella infantis</i> .	O microorganismo 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)

incubação durante 21 horas. Zonas de inibição (incluindo o diâmetro do disco) 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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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% O ₂ 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	Átrios direitos e tiras de artérias caudais de ratos machos Sprague-Dawley / 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)

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Cardiovascular [#] (continuação)	Extrato aquoso / 3, 30, 100, 300, 1,000 ou 3,000 mg/ L.	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	Átrios direitos e tiras de artérias caudais de ratos machos Sprague-Dawley / 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	(44)

		primeira dose, a próxima dose mais elevada foi aplicada imediatamente, e assim por diante. Respostas cronotrópicas e inotrópicas foram, em seguida, obtidas.		exerceu um efeito de relaxamento.	
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 a bactéria gram negativa <i>E. coli</i> e ao fungo <i>C. albicans</i> . Apresentou efeito inibitório frente: <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>L. monocytogenes</i> e <i>B. subtilis</i> .	(90)
Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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	Cultura de espermatozoides / 10 ⁶ células.	Os efeitos da imobilização espermática apareceram imediatamente e de modo dose-dependente. 100% dos	(9)

mesma proporção de PBS. Para verificação da motilidade espermática, 10 µL da mistura foram adicionados imediatamente em uma lâmina pré-aquecida e, ao menos, 10 campos foram visualizados (para contagem de, no mínimo, 200 espermas). A motilidade foi avaliada usando o sistema de classificação da OMS (1999). O total de espermatozóides móveis foi somado. A menor dose capaz de causar 100% de imobilidade foi chamada de dose mínima eficaz (DME).

espermatozóides tornaram-se imóveis na concentração de 100 mg/ mL. No teste de avivamento, $30,8 \pm 3,2\%$ dos espermatozóides retomaram o movimento, além de apresentarem cauda enrolada em $38,6 \pm 5,5\%$ na células tratadas, em comparação com $12,5 \pm 2,0\%$ do grupo controle.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Espermicida	Extrato aquoso	Ensaio de reversão da imobilidade (teste de	Cultura de	Os efeitos da imobilização	(9)

(continuação)	/ 6,25, 12,5, 25, 50, 100 ou 200 mg/ mL.	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 (1000x). A porcentagem de células vivas (brancas) e mortas (coradas) foi calculada levando com base uma contagem total de 200 células.	espermatozoides / 10 ⁶ células.	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% na células tratadas, em comparação com 12,5 ± 2,0% do grupo controle.
----------------------	--	---	--	---

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória	Extrato	Efeito do extrato na produção de óxido	Cultura celular de	Macrófagos mostraram	(80)

metanólico / 100, 200, 300, 400 ou 500 µg/ mL.	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 rutina 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.	macrófagos murinos (J-774) / 2x10 ⁶ células/ mL.	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 rutina isolada não apresentou efeito. Efeito sinérgico foi observado quando da administração do extrato (200 ou 500 µg/ mL) com 40 µM de rutina. 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.
---	--	---	--

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória 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 kit de ELISA BD Biosciences (USA).	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.	(81)

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória e antioxidante (continuação)	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 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 CO2. As células foram então lavadas com PBS e analisadas usando microscópio de fluorescência.	Cultura celular de macrófagos murinos (J-774) / 2x10 ⁶ células/ mL.	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)

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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	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)

oxidação inicial foi medida até 2 minutos.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 a superfície do ágar. A 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> ,	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)

Serratia marcescens,
Shigella flexneri e
Vibrio cholerae non-O1.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antibacteriana	Extrato metanólico / 100 ou 500 µg.	Ensaio da luciferase (LRP): 40 µL de 0,1M CaCl ₂ e 50 µL de pAE129 foram adicionados aos "vials" 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</i> <i>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 testadas.	(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	Espermatozóides e complexos cumulos- oócitos / N.D.	A capacidade de fertilização dos espermatozóides foi significativamente reduzida no grupo tratado com o extrato de <i>Ruta graveolens</i> .	(117)

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 in vitro 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)
Anti-câncer	Composto isolado do extrato etanólico / 5, 10, 15, 20, 25,	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	Linhagens de células A375 (melanoma) e PBMC / N.D.	Graveolilna induziu autofagia nas células A375 associada a proteína Beclin-1. O composto também induziu apoptose nas células cancerígenas	(86)

30 ou 35 µg/
mL.

(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.

(melanomas), uma característica deseja em drogas utilizadas no tratamento do câncer.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-câncer (continuação)	Composto isolado do extrato etanólico / 5, 10, 15, 20, 25, 30 ou 35 µg/mL.	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 µM H2DCFDA e fotografadas no microscópio de fluorescência para análises qualitativas. A intensidade de fluorescência foi medida usando o software Cyflogic.	Linhagens de células A375 (melanoma) e PBMC / N.D.	Graveolilna induziu autofagia nas células A375 associada a 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)
---------------	---------------------------	---	-------------	--	-------

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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 a peroxidase foi realizada no formato de microtitulação de 96 poços modificado. Os extratos foram re-dissolvidos 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	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)

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Inibição enzimática da Monoaminoxidase (continuação)	Extrato aquoso, etanólico, etéreo e acetato de etila / 1, 0,5, 0,25, 0,1, 0,01, 0,001 ou 0,0001 mg/mL.	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	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	(121)

foram tomadas a cada 5 minutos ao longo de um período de 40 minutos. As placas foram incubadas entre as leituras, a 37 ° C.

inibitória da MAO.

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)
Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória 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	Células <i>H. pylori</i> 193C, células AGS (linhagem de células de câncer gástrico humano) / 10 ⁸ bactérias/ml (<i>H. pylori</i>) ou 10 ⁶ 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	(123)

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.

extrato não mostrou supressão na produção de espécies reativas de oxigênio.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória e Citoprotetora (continuação)	Extrato hidroetanólico / 50 ou 100 µg/ mL.	Células AGS foram co-cultivadas 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	Células <i>H. pylori</i> 193C, células AGS (linhagem de células de câncer gástrico humano) / 10 ⁸ bactérias/ml (<i>H. pylori</i>) ou 10 ⁶ 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	(123)

deixadas durante a noite, lavadas com PBS três vezes e pré-incubadas com ou sem FBS/antibiótico, seguido pela adição de *H. pylori* 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 2µM hidroetidina (HE) para detectar superóxido intracelular (O_2^-).

produção de IL-8. Por fim, o extrato não mostrou supressão na produção de espécies reativas de oxigênio.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-proliferativa	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.	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	(95)

Imunoensaio: o lisado de células foi preparado em NP-40 *buffer* e a concentração de proteínas foram determinadas usando o ensaio de compatibilidade de proteína.

Amostras contendo concentrações equivalentes de proteínas foram misturadas com Laemmli *buffer* 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 1:1000.

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-proliferativa (continuação)	Extrato metanólico / 3, 6, 15, 30, 37, 60, 75, 150, 300 ou 600 µg/mL.	A peroxidase conjugada e os anti-corpos secundários foram usados na concentração de 1:5000. 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.	Linhagem de células de câncer colorretal HCT116. Células RKO e MCF7. Linhagem de células de câncer prostático PC3 e DU-	O extrato de forma dose-dependente diminuiu a viabilidade e a clonogenicidade das células tratadas e induziu mitoses aberrantes e a ativação da	(95)

Caspase 3 recombinante foi utilizada como controle. As células foram incubadas com 1 μ M estaurosporina por 3 h. Ensaio de citometria de fluxo: As células foram tripsinizadas com 0,25% tripsina-EDTA e centrifugadas. Peletes foram resuspendidos em 300 μ L em PBS, fixadas pela adição de 700 μ L 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).

145 / N.D.

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antibacteriana e antifúngica	Óleo Essencial / Teste de difusão em disco: 10 μ L/disco.	Método de difusão em disco: Foram utilizados 100 μ L da suspensão de microorganismos. Agar Mueller-Hinton e Sabouraud dextrose foram utilizados e distribuídos em placas estéreis. Após a	Cepas padrão de microorganismos ATCC (American Type Culture Collection) / 2×10^8 unidades formados de	O óleo essencial apresentou fraca atividade no teste de difusão contras as cepas de bactérias testadas. Já nos testes realizados contra as	(21)

Determinação da concentração inibitória mínima (MIC): 0,3 - 163 µg/mL.	aplicação dos microorganismos 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 microorganismos por poço. A concentração inibitória mínima foi determianda como a menor concentração do óleo essencial na qual o microorganismo não demonstrou crescimento visível. O crescimento foi indicado pela turbidez do poço.	colônias/ml (bactérias), 1-5x10 ⁶ unidades formados de colônias/mL (<i>Candida albicans</i>) ou 2x10 ⁵ esporos/ml de fungos.	cepas de fungos, o óleo revelou forte atividade, principalmente contra <i>Candida albicans</i> .
--	---	--	--

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
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	Acetilcolinesterase (AChE), células HeLa, Rhinovirus 2 (HRV-2), membrana com super-	A arborinina apresentou a maior % de inibição da enzima AChE com valor de IC ₅₀ de 34,7 µM. As melhores	(66)

citotoxicidade/atividade antiviral: 50% da atividade citotóxica foi previamente determinada em células HeLa, as quais foram incubadas por 72 horas em ambiente com 5% CO₂ - 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.

expressão de receptores canabinoides / N.D.

atividades citotóxicas/antivirais foram apresentadas pelos compostos metoxicumarina e arborinina (IC₅₀ 11,98 e 3,19 µM, respectivamente). A rutamarina apresentou forte ligação aos receptores CB₂.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antidiabética e Citotóxica	Extrato aquoso ou etanólico / 0,125, 0,5, 12,	Ensaio de utilização de glicose por células musculares C2C12: foi realizado em placas de cultura de 96 poços. As placas foram	Células C2C12 / 5000 células/poço; Células de fígado Chang / 6000	O extrato etanólico produziu um forte aumento no consumo de glicose das células	(97)

5 ou 50 µg/ mL	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 buffer 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.	células/ poço	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.
----------------	---	---------------	--

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
Antidiabética e	Extrato aquoso	Ensaio de utilização de glicose em células de	Células C2C12 / 5000	O extrato etanólico produziu	(97)

Citotóxica (continuação)	ou etanólico / 0,125, 0,5, 12, 5 ou 50 µg/ mL	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/poço; Células de fígado Chang / 6000 células/poço	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.
------------------------------------	---	--	---	--

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referên
-----------	------------------------	-------------	-----------------------	-----------	---------

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)

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

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	Referên
Antidiabética	Extrato metanólico / 0,5, 1,0 ou 1,5 g/ Kg / Oral.	Indução de diabetes por meio da injeção de alloxan monohidratado 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)

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 deferminada 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 $\pm$ 2,00 ao longo de um período de 25 dias. Além disso, a administração de 500 μ g/ kg de glibenclamida ® apresentou uma redução significativa de glicose no sangue (519 a 115-112 mg/ dl $\pm$ 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	(40)

sangue.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 20 h, 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 cm ² com uma	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)

fita adesiva 3M de 12 mm.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Fototóxica (continuação)	Extrato etanólico / 0,1% / Tópica.	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 =	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)

eritema moderado e 3 = eritema severo.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-nociceptiva e Antiinflamatória	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.	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 anti- nociceptivo leve foi observado. No entanto seu efeito foi tardio (45 minutos). A administração do extrato não apresentou diferença significativa no modelo de	(124)

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.

edema de orelha. Além disso, o extrato de *Ruta graveolens* apresentou atividade anti-proliferativa.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-nociceptiva e Antiinflamatória (continuação)	Extrato etanólico / 100 ou 200 mg/ Kg / Oral ou intraperitoneal.	Latência para exibir a resposta nociceptiva, como lambar 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	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 anti-nociceptivo leve foi observado. No entanto seu efeito foi tardio (45 minutos). A administração do extrato não	(124)

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 tratado foi calculado.

apresentou diferença significativa no modelo de edema de orelha. Além disso, o extrato de *Ruta graveolens* apresentou atividade anti-proliferativa.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Abortiva e Estrogênica	Extrato Hidroetanólico / 1000 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 primeiro ou terceiro dia), implantação (administração do quarto ao sexto dia) e pós-implantação (administração do sétimo ao nono dia), após o período de tratamento os animais foram	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	(45)

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.

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antifertilidade	Extrato aquoso, etéreo, metanólico, benzênico ou clorofórmico / Extrato partes aéreas (4 ou 6 mL/ Kg), extrato etéreo 0,25 ou	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 espermatozóides 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	Fêmeas de Camundongos e Ramsters / 3 grupos testes contendo 10 animais por grupo.	Todos os extratos testados mostraram potencial atividade anticonceptiva. Os extratos benzênico e clorofórmico foram tóxicos. A rotina, administrada isoladamente, foi inativa para os modelos testados. Nenhuma das preparações mostrou	(47)

0,6 g/ Kg, observadas por um total de 16 dias e os atividade em ramsters.
 Benzênico 0,1 g/ ramsters por 10 dias.
 Kg,
 Clorofórmico
 0,1 g/ Kg,
 Metanólico 1 ou
 2,5 g/ Kg, Rutina
 0,16, 0,4 ou 1,6
 g/ Kg / Oral.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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)

Anti-fertilidade *	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)
--------------------	-----------------------------------	-------------------------------	--	---	-------

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória	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	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 lomoção normais. A concentração de nitrito foi significativamente abaixada	(81)

tratamentos. Em seguida a 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-1 β .

(75%) nas amostras de plasma dos animais tratados em comparação com os animais desafiados com LPS.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória, 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	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 significativa dos	(126)

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 foi colocada em tubo de 15 mL com 3 mL de soro.

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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória, antioxidante e contra doença aórtica (continuação)	Extrato hidrometanólico / 20 mg/ Kg de peso corporal / Oral.	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.	Ratos albinos machos (Sprague-Dawley) / 6 animais por grupo, totalizando 18 animais.	As enzimas antioxidantes super-óxido dismutase, catalase e glutational peroxidase aumentaram no fígado e no coração após tratamento. Houve um aumento nos níveis de	(126)

Os monócitos foram gentilmente aspirados e lavados (2 vezes) com solução salina de buffer fosfato (PBS). Após a formação de pelete, o mesmo foi ressuspense 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 emblocados em parafina e posteriormente corados com hematoxilina-eosina (HE). Os tecidos foram examinados sobre microscópio óptico.

glutaciona 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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 adicionado a mesma proporção de PBS. Para verificação da motiliadade espermática, 10 µL da	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	(127)

mistura foram adicionados imediatamente em uma lâmina pré-aquecida 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).

das horas e após 6 horas, foi a mesma do grupo controle. Não houve mudanças significativas na viabilidade, morfologia e estrutura do DNA. Os níveis de testosterona dos animais tratados com extrato não sofreram alterações quando comparados com o grupo controle.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Contraceptiva masculina (continuação)	Extrato aquoso / 5 g/ Kg / Oral.	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	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	(127)

foram lavadas duas vezes em PBS e incubadas a 37 °C durante 30 minutos para observar a reversão da motilidade dos espermatozóides 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 (1000 x). A porcentagem de células vivas (brancas) e mortas (coradas) foi calculada levando com base uma contagem total de 200 células.

mobilidade aumentou gradualmente com o passar das horas e após 6 horas, foi a mesma do grupo controle. Não houve mudanças significativas na viabilidade, morfologia e estrutura do DNA. Os níveis de testosterona dos animais tratados com extrato não sofreram alterações quando comparados com o grupo controle.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-inflamatória	Extrato metanólico / 100, 200 ou 400	Ensaio da carraginata: a atividade anti-inflamatória foi avaliada pelo edema de pata induzido por carraginata. Os animais foram	Ratos Wistar machos adultos / Foram utilizados 54 animais	O extrato mostrou máxima inibição do edema induzido por carraginata (33,3% para	(77)

mg/ Kg / Oral.	tratados primeiramente com as diferentes doses do extrato ou indometacina (controle). Após 1 hora, os animais foram injetados com 1% de carraginata sub-plantar 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.	divididos em 5 grupos de 6 animais no ensaio da carraginata e 4 grupos de 6 animais no ensaio de inflamação exsudativa.	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 (IC ₅₀ 182,3 µg/mL) e COX-2 (IC ₅₀ 190,2 µg/mL), bem como a lipoxigenase. Considerável atividade antioxidante foi obtida com todos os tratamentos.
----------------	--	---	---

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-fertilidade *	Extrato clorofórmico /	N.D.	Ratos / N.D.	O extrato mostrou atividade atuando nos estágios iniciais	(92)

	N.D. / Oral.			da prenhez. O trabalho também demonstrou pequena toxicidade para o composto isolado chalepensis.	
Espermatogênese *	Extrato aquoso / 300 mg/ Kg / Intraperitoneal	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, espermatídes 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)
Atividade	Tipo Extrato /	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên

Dose / Via					
Anti-conceptiva e Anti-fertilidade	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 alta 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 6 ao 15º dias após o coito, diminuíram o número de fêmeas com fetos	(130)

e aumentaram a mortalidade.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anticonvulsivante	Extrato metanólico / 25, 50 ou 100 mg/ Kg - atividade anticonvulsivan- te, 100, 200, 400, 800, 1200, 1600, 2000, 2400, 2800, 3200, 3600 e 4000 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 sequencia 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	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	(5)

		crescentes e após 5 dias foram observados e anotados o número de animais mortos.		tóxicos, sendo a DL ₅₀ superior a 4000 mg/kg.	
Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 1000 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)

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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)
--------------------	----------------------------------	------	--------------------------------	--	-------

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 espermátocitos e espermátides quando comparadas aos controles.	(135)

Houve uma diminuição nos níveis dos hormônios testosterona e FSH. O comportamento sexual foi e agressivo foram surprimidos.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Anti-parasitária	Extrato Hidroetanólico / 50, 100 ou 200 mg/ Kg / Oral.	Os animais foram infectados oralmente com 1000 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	Camundongos Swiss machos e fêmeas / N.D.	Fraca atividade antiparasitária. O extrato não provocou uma eliminação significativa de parasitas.	(114)

estereomicroscópio.

Antifertilidade*	Extrato aquoso / 310 mg/ Kg / Intraperitoneal.	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)
------------------	--	---	-------------------------------------	--	-------

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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	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)

produção de urina foi medida após 2 e 24 horas. Foi obtido sangue por meio da veia caudal.

Antiinflamatória*	Extrato aquoso, etanólico ou metanólico / 20 ou 50 mg/ Kg / Intraperitoneal.	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)
-------------------	--	---	----------------------------	--	-------

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antidiarréica	Extrato etanólico / 50, 100, 200 ou 300 mg/ Kg / Oral.	Diarréia induzida por óleo de rícino: Os animais foram deixados de jejum por 18 horas, porém tiveram livre acesso a 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	Ratos Wistar de ambos os sexos / 60 animais divididos em 10 grupos.	Ambos os extratos (folhas ou dos caules) mostram atividade antidiarréica de forma dose dependente. Os extratos promoveram diminuição profunda do trânsito intestinal e diminuíram o volume e massa do conteúdo intestinal.	(78)

		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.			
Antiimplantação*	Extrato não especificado / N.D. / N.D.	N.D.	Ratas fêmeas albinas.	O extrato inibiu a prenhez em 50-60% das ratas.	(138)
Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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	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	(139)

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.

pré-tratamento com naloxona ou yimbina 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 opióide e adrenérgico (alfa-2), mas não com o serotonérgico.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Contraceptiva	Extrato etanólico / 20 mg/ dia / Intraperitoneal.	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 avaliados 100 amostras. A atividade progressiva foi	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)

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 ressuspendido em 10 mL de meio T6. Uma fração da suspensão foi misturada com azul de Tripan e o número de espermatozoides foi contado.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
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 diminui 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	(57)

aumento 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.

Contraceptiva*	Extrato alcoólico / 20 mg/kg / Intraperitoneal.	Função testicular por meio da contagem espermática no epididimo.	Ratos machos adultos / N.D.	O tratamento reduziu a contagem espermática e a espermatogênese.	(67)
----------------	---	--	-----------------------------	--	------

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referência
Antiinflamatória	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	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	(140)

foram eutanasiados por decaptação. O sangue e as cartilagens conjuntivas foram coletadas 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.

enzimas antioxidantes (vitamina 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.

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória	Frações do extrato / Agudo: 5, 10 ou 15 mg/	Inflamação aguda - Foi utilizado o protocolo do edema de pata induzido por carragenina. Após 1 hora dos tratamentos os animais	Ratos Wistar machos / 54 animais divididos em 9 grupos.	A fração alcalóide na dose de 10 mg/ Kg mostrou alta atividade anti-inflamatória.	(141)

Kg. Crônico: 10 mg/ Kg / Agudo: Intraperitoneal. Crônico: Oral.	receberam 0,1 mL da suspensão de carragenina a 1%, por via sub-plantar. 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 coletadas 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.	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 alcalóide nos modelos agudo e crônico de inflamação em ratos.
---	---	---

Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória	Extrato hexânico : metanólico	Foi utilizado o protocolo do edema de pata induzido por carragenina. Após 1 hora dos tratamentos os animais receberam 0,1 mL da	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	(55)

	(substância isolada) / 1 - 100 mg/ Kg / Intraperitoneal.	suspensão de carragenina a 1%, por via sub-plantar. 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.		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.	
Perfil lipídico, glicose e hematológico de animais diabéticos.	Extrato hidroetanólico / 10, 20 ou 30 mg/ Kg / Intraperitoneal.	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)
Atividade	Tipo Extrato / Dose / Via	Metodologia	Espécie / Quantidade	Resultado	Referên
Antiinflamatória e Anti-apoptótica	Extrato metanólico /	A inflamação foi induzida por meio da administração oral de $AlCl_3$ na dose de 17	Ratos machos Sprague Dawley / 70 animais	O tratamento resultou em significativa inibição da	(143)

375 ou 750 mg/ Kg / Oral.	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 1800g por 10 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi separado para avaliações bioquímicas. A segunda metade foi guardada para avaliações histológicas.	divididos em 7 grupos.	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.
------------------------------	---	------------------------	--

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

4.3.2.3 *Ensaio ex vivo*

Do total de trabalhos selecionados para a monografia, poucos foram aqueles que relataram a atividade farmacológica *ex vivo*. Dentre eles, 2 se relacionam a atividade farmacológica no músculo cardíaco, 1 no músculo uterino e, por fim, 1 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 alcalóide / 1,25, 2,5 ou $3,8 \times 10^{-6}$ % (extrato) e 0,25 ou $0,5 \times 10^{-6}$ mg % (fração alcaloide).	Modelo de Langendorff: os animais foram injetados (i.p.) com 2500 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 software. 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,	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)

 ML870, Austrália.

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
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 rutina também mostrou atividade uterotônica máxima na concentração de 0,25 mg/ mL.	(69)

Atividade	Tipo Extrato / Dose	Metodologia	Material / Quantidade	Resultado	Referência
Contratibilidade músculo liso gastrointestinal*	Etanólico / 5, 10, 50 ou 100 µl/ mL.	Cada um dos segmentos de estômago ou duodeno foram montados presos 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 Ruta 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)

N.D. = Não disponível; * Somente o resumo 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 9 pacientes, os quais tiveram seus escotomas visuais avaliados, desde a administração do extrato até 2 dias subsequentes. Em 5 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

À partir dos usos populares ou tradicionais da espécie *R. graveolens*, pode-se verificar que existem 3 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, 1 vez ao dia (8, 102).

4.5.4 Período de Utilização

Informação não descrita na literatura pesquisada.

4.5.5 Contra Indicações

A principal contra indicação 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.

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 (1^a edição), na Farmacopeia Europeia, e é citada brevemente na Farmacopeia Americana (1^a 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: INPI (Instituto Nacional da Propriedade Industrial), USPTO (*United States Patent and Trademark Office*), EPO (*European Patent Office*), WIPO (*World Intellectual Property Organization*) e JPO (*Japan Patent Office*). 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	Nº 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
-----	-------------------	---	---	--

Base	N° Patente	Título	Requerente	Inventor
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

Base	Nº Patente	Título	Requerente	Inventor
JPO	2005-343836	<i>Anti-Influenza virus agent, and 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, se refere 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). No candomblé de Angola e na umbanda, é relacionada ao *orixá Exu*, sendo de natureza feminina (152).



Figura 5 – Jean-Baptiste Debret: O vendedor de arruda. 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, *Cnidocolus 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.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, Martínez 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. Kataki 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-Bukhsa 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, Iou 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 (LD₅₀ 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. Sevigani 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.

APÊNDICE A – Protocolo de pesquisa

1. Nomenclatura científica

Os nomes científicos, sinonímias botânicas, famílias e nomes populares da espécie em estudo (*Ruta graveolens*) foram confirmados após consulta nas bases de dados de informações botânicas “**Lista de Espécies da Flora do Brasil**” (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>), “**Tropicos**” (<http://www.tropicos.org/>) e “**International Plant Names Index**” (<http://www.ipni.org/>). Os resultados obtidos nas pesquisas efetuadas em cada uma dessas bases de dados serão apresentados a seguir.

A busca pelo binômio “*Ruta graveolens*” na **Lista de Espécies da Flora do Brasil** foi realizada em 07/04/2014. As informações resultantes são apresentadas no quadro abaixo:

Data da busca	07 de abril de 2014
Termo pesquisado	<i>Ruta graveolens</i> ¹
Resultados	
Nome aceito / Nome correto	<i>Ruta graveolens</i> L.
Hierarquia taxinômica	Flora → Angiospermas → Rutaceae A.Juss. → Ruta L. → <i>Ruta graveolens</i> L.

¹Pesquisa nos quadros “gênero” e “espécie”.

No portal **Tropicos** a busca pelo binômio “*Ruta graveolens*” retornou os seguintes resultados:

Data da busca	07 de abril de 2014
Termo pesquisado	<i>Ruta graveolens</i>
Resultados	
Autor	Linnaeus, Carl von
Família	Rutaceae Juss.
Gênero	Ruta L.
Nomes comuns	Rue
Sinonímia Botânica	<i>Ruta hortensis</i> Mill.

Finalmente, na base de dados **International Plant Names Index** também foi realizada a busca por meio do binômio “*Ruta graveolens*”, resultando em:

Data da busca	07 de abril de 2014
Termo pesquisado	<i>Ruta graveolens</i>
Resultados	
Autor	Linnaeus, Carl von
Nome aceito	<i>Ruta graveolens</i> L.
Família	Rutaceae

2. Descritores

Os descritores DeCS (**Descritores em Ciências da Saúde**) e MeSH (**Medical Subjects Headings**) foram utilizados para auxiliar na definição da estratégia de busca. Essas buscas foram realizadas no dia 07/04/2014.

Para o descritor **DeCS**, as pesquisas pelo binômio “*Ruta graveolens*” e para o gênero “Ruta” retornaram os seguintes resultados:

Data da busca	07 de abril de 2014
Termo pesquisado	<i>Ruta graveolens</i> ¹
Resultados	
Descritor Inglês	<i>Ruta graveolens</i>
Descritor Espanhol	<i>Ruta graveolens</i>
Descritor Português	<i>Ruta graveolens</i>
Sinônimos Português	<i>Ruta hortensis</i>
Termo pesquisado	Ruta ¹
Resultados	
Descritor Inglês	Ruta
Descritor Espanhol	Ruta
Descritor Português	Ruta
Sinônimos Português	Ruda, Arruda

¹Consulta realizada por “palavra ou termo” e por “índice permutado”

Já para o descritor **MeSH**, as pesquisas realizadas por meio do binômio “*Ruta graveolens*” resultou em:

Data da busca	07 de abril de 2014
Termo pesquisado	<i>Ruta graveolens</i>
Resultados	
Ano de introdução	2003
Termos encontrados	• Rutas • Rue • Rues • Ruta chalepensis¹ • Ruta chalepenses¹ • chalepenses, Ruta¹ • chalepensis, Ruta¹ • Ruta graveolens • Ruta graveolen • graveolen, Ruta • graveolens, Ruta

¹O termo *Ruta chalepensis* foi caracterizado como sendo outra espécie que não a espécie objeto deste trabalho (*Ruta graveolens*)

3. Definição da estratégia de busca

Considerando os resultados obtidos da busca nas bases de dados botânicas citadas no item 1 e nos descritores citados no item 2, definiu-se a estratégia de busca utilizada: “arruda” OR “ruda” OR “rutas” OR “rue” OR “rues” OR (“ruta” AND (“graveolen” OR “graveolens” OR “hortensis”))

As palavras-chave pesquisadas são descritas a seguir:

- ✓ Arruda
- ✓ Ruda
- ✓ Rutas
- ✓ Rue

- ✓ Rues
- ✓ Ruta graveolen
- ✓ Ruta graveolens
- ✓ Ruta hortensis

Para cada uma das bases de dados pesquisadas, a estratégia foi aprimorada, sendo a busca realizada principalmente no título, resumo ou palavras-chave, por meio da utilização de sintaxes adequadas, as quais serão apresentadas (quando for o caso) no próximo item.

4. Bases de dados consultadas

Após a definição da estratégia de busca, conforme descrito no item 3, esta foi empregada nas pesquisas realizadas nas bases de dados **SciELO, Lilacs, PubMed, DARE, Cochrane Library, Banco de Teses Capes, Domínio Público, SCOPUS e ScienceDirect**. A base de dados, a estratégia de busca utilizada, o número de trabalhos resultantes da consulta nessas bases de dados, a data da consulta e o período pesquisado são apresentados no quadro abaixo:

Base de Dados	Estratégia utilizada	Número de trabalhos	Data da Consulta	Período da Consulta
Scielo	(ab:(arruda)) OR (ti:(arruda)) OR (ab:(ruda)) OR (ti:(ruda)) OR (ab:(rutas)) OR (ti:(rutas)) OR (ab:(rue)) OR (ti:(rue)) OR (ab:(rues)) OR (ti:(rues)) OR (ab:(ruta graveolens)) OR (ti:(ruta graveolens)) OR (ab:(ruta graveolen)) OR (ti:(ruta graveolen)) OR (ab:(ruta hortensis)) OR (ti:(ruta hortensis))	448	07/04/2014	Todos os trabalhos publicados até a data de pesquisa
Lilacs	(ab:(arruda)) OR (ti:(arruda)) OR (ab:(ruda)) OR (ti:(ruda)) OR (ab:(rutas)) OR (ti:(rutas)) OR (ab:(rue)) OR (ti:(rue)) OR (ab:(rues)) OR (ti:(rues)) OR (ab:(ruta graveolens)) OR (ti:(ruta graveolens)) OR (ab:(ruta graveolen)) OR (ti:(ruta graveolen)) OR (ab:(ruta hortensis)) OR (ti:(ruta hortensis))	227	07/04/2014	
PubMed	“Arruda” [Title/Abstracts] OR “Ruda” [Title/Abstracts] OR “Rutas” [Title/Abstracts] OR “Rue” [Title/Abstracts] OR “Rues” [Title/Abstracts] OR “Ruta graveolen” [Title/Abstracts] OR “Ruta graveolens” [Title/Abstracts] OR “Ruta hortensis” [Title/Abstracts]	206	09/04/2014	
DARE	"ruta graveolens" OR "ruta hortensis"	0	07/04/2014	
Cochrane Library	"ruta graveolens" OR "ruta hortensis"	3	07/04/2014	
Banco de Teses - CAPES	"ruta graveolens" OR "ruta hortensis"	10	07/04/2014	
Domínio Público	"ruta graveolens" OR "ruta hortensis"	2	07/04/2014	
SCOPUS	(TITLE-ABS-KEY("arruda") OR TITLE-ABS-KEY("rutas") OR TITLE-ABS-KEY("rue") OR TITLE-ABS-KEY("rues") OR TITLE-ABS-KEY("ruda") OR TITLE-ABS-KEY("ruta graveolen") OR TITLE-ABS-KEY("ruta graveolens") OR TITLE-ABS-KEY("ruta hortensis"))	2540	07/04/2014	
Science Direct	TITLE-ABSTR-KEY (“Arruda” OR “Ruda” OR “Rutas” OR “Rue” OR “Rues” OR "ruta graveolens" OR "ruta graveolen" OR "ruta hortensis")	1478	07/04/2014	
TOTAL		4914		

As referências e os resumos dos trabalhos obtidos a partir da consulta a essas bases de dados foram exportados para o EndNote® *Web online* versão 3.8.1 e a ferramenta disponibilizada foi empregada para a remoção dos trabalhos repetidos. O número de trabalhos, após a remoção das replicatas, será apresentado no quadro abaixo:

Base de Dados	Número de trabalhos após a remoção das replicatas ¹	Data da Consulta	Período da Consulta
Scielo	369	10/04/2014	Todos os trabalhos publicados até a data de pesquisa
Lilacs	227		
PubMed	127		
DARE	0		
Cochrane Library	3		
Banco de Teses - CAPES	10		
Domínio Público	2		
SCOPUS	2396		
Science Direct	1468		
TOTAL	4602		

¹A ferramenta não permitiu a remoção de todos os trabalhos repetidos, consistindo em uma avaliação preliminar. Desta forma, alguns desses trabalhos foram detectados após a avaliação de todos os resumos.

5. Critérios de inclusão ou exclusão utilizados para a seleção de trabalhos

Os critérios, pré-definidos, para a exclusão de trabalhos foram: 1) Estudos em duplicata; 2) Estudos com finalidade de uso veterinário; 3) Estudos de agronomia e; 4) Estudos com temática de trabalho não relacionadas ao interesse do projeto como, por exemplo: a.) estudos de botânica mostrando a produção de metabólitos secundários como fatores influenciadores de processos vegetais específicos ou sobre a utilização destes metabólitos contra outros organismos considerados pragas agrícolas; b.) trabalhos com culturas de células mostrando a influência de elicitores nas vias metabólicas e na expressão gênica da espécie; c.) trabalhos que apresentavam termos e consequentemente assuntos que em nada se relacionavam a espécie "*Ruta graveolens*", como por exemplo, os termos "*rutas*" (Espanhol), cuja tradução para o português é "rotas/vias" e o termo "*rue*" (Francês), cuja tradução é "rua".

Já os critérios para a inclusão foram: 1) Após confirmação dos nomes científicos, famílias e sinonímias botânicas da espécie vegetal, foram incluídos apenas os estudos que realmente se referiam à espécie selecionada e a sua sinonímia botânica; 2) Estudos que não deixaram claro qual a espécie vegetal utilizada foram incluídos, porém estes estudos fizeram referência aos nomes populares. Futuramente será informada como limitação do estudo essa falta de identificação; 3) Artigos/referências que descreveram a espécie vegetal e/ou a parte utilizada, apresentando informações botânicas; 4) Artigos/referências que incluíram informações de controle da qualidade tanto para a droga vegetal, quanto para o derivado vegetal e o produto final obtidos de qualquer parte da planta, e que continham informações sobre constituintes químicos, requisitos de pureza, técnicas de identificação e metodologias de análise; 5) Artigos que continham informações de segurança e eficácia, para qualquer derivado vegetal obtido de qualquer parte da planta, ou produto final. Foram selecionados todos os ensaios encontrados, pré-clínicos (*in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*) e clínicos, que avaliaram os efeitos de qualquer estágio de desenvolvimento de fitoterápicos: droga vegetal, derivado e produto final em qualquer atividade terapêutica; 6) Foram incluídos estudos observacionais, assim como os de revisão/revisão sistemática; 7) Estudos com associação de espécies vegetais, incluindo informações de sinergismo, antagonismo ou reações adversas advindas do uso concomitante da espécie vegetal com medicamentos sintéticos ou outros produtos naturais, assim como interação com alimentos; 8) Estudos com composto(s) químico(s) isolado(s) foram incluídos quando trouxeram informações importantes sobre a espécie vegetal de interesse.

6. Observações

Após a avaliação dos 4602 trabalhos resultantes da consulta nas bases de dados, foram selecionados 263, correspondendo a aproximadamente 6% do total. Cabe ressaltar aqui que o número de trabalhos totais (4602) indicou resultados superestimados, tendo em vista que, após a análise individual dos resultados da busca, foi observado que os termos “*rue*”, “*ruess*”, “*ruta*”, “*rutas*” são muito freqüentes/comuns em Francês e Espanhol e que o termo “*arruda*”, trata-se de um nome próprio, retornando, desta forma, um número muito grande de trabalhos que em nada se correlacionavam com a espécie proposta para estudo (*Ruta graveolens*).

Por fim, do total de trabalhos selecionados, 121 estão disponíveis, enquanto que 142 – aproximadamente 54% - não estão disponíveis. Chama a atenção que destes trabalhos não

disponíveis boa parte deles não possui resumo e/ou o trabalho encontra-se escrito em línguas como: Alemão, Italiano, Húngaro, Iraniano e outras.

Os trabalhos selecionados por base de dados são apresentados no quadro abaixo:

Base de Dados	Número de trabalhos selecionados	Data da Consulta	Período da Consulta
Scielo	4	14/04/2014	Todos os trabalhos publicados até a data de pesquisa
Lilacs	22		
PubMed	57		
DARE	0		
Cochrane Library	3		
Banco de Teses - CAPES	2		
Domínio Público	0		
SCOPUS	128		
Science Direct	47		
TOTAL	263		

Com relação à classificação, os trabalhos foram divididos em 16 áreas, a saber: 1) Agronomia; 2) Botânica; 3) Controle de Qualidade; 4) Etnobotânica/Etnofarmacologia; 5) Biotecnologia; 6) Farmacotécnica; 7) Farmacologia pré-clínica; 8) Farmacologia clínica; 9) Toxicologia pré-clínica; 10) Toxicologia clínica; 11) Farmacocinética; 12) Química/Fitoquímica; 13) Epidemiologia/Farmacoepidemiologia; 14) Interações; 15) Farmacologia Molecular/Biologia Molecular e; 16) Revisão.

Alguns trabalhos selecionados foram incluídos em duas ou mais áreas. Além disso, boa parte dos trabalhos recebeu sua classificação com base exclusivamente no título, tendo em vista que, como citado anteriormente, muitos dos trabalhos não possuem resumo e/ou estão escritos em línguas diversas que não o Português, Inglês ou Espanhol.

A grande maioria dos trabalhos foi classificada na área de Química/Fitoquímica e/ou Farmacologia pré-clínica, enquanto que a minoria foi classificada na área de Controle de Qualidade ou Agronomia. A distribuição dos resumos selecionados nas áreas, definidas pelo “Guia orientativo para elaboração de estudos orientados de revisão, análise e sistematização das informações científicas (monografias) para plantas medicinais”, é apresentada no quadro a seguir:

Classificação de acordo com a área de aplicação	Número de trabalhos
1) Agronomia	3
2) Botânica	8
3) Controle de Qualidade	1
4) Etnobotânica/Etnofarmacologia	21
5) Biotecnologia	8
6) Farmacotécnica	0
7) Farmacologia pré-clínica	84
8) Farmacologia clínica	6
9) Toxicologia pré-clínica	19
10) Toxicologia clínica	0
11) Farmacocinética	0
12) Química/Fitoquímica	94
13) Epidemiologia/Farmacoepidemiologia	20
14) Interações	0
15) Farmacologia Molecular/Biologia Molecular	9
16) Revisão	29
TOTAL¹	302

¹ Alguns dos 302 trabalhos selecionados foram classificados em duas ou mais áreas.