



## Avaliação dos unguentos à base de extratos hexânico ou etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre as lesões cutâneas experimentais em coelhos

Evaluation of the ointment containing the hexanic or ethanolic extracts of leaves of *Momordica charantia* L. on experimental cutaneous wounds in rabbits

Ana Karinne Paiva Vasconcelos, Adriana Rocha Tomé,  
Bárbara Sucupira Pereira & Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro

### RESUMO

Entre as inúmeras plantas empregadas na medicina tradicional destaca-se a *Momordica charantia*, que vem ganhando notoriedade científica por suas diversas propriedades biológicas e farmacológicas. O objetivo deste trabalho foi investigar a regeneração de lesões cutâneas em coelhos, tratadas diariamente com unguento contendo os extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) das folhas de *M. charantia* nas concentrações de 10 e 20%, comparadas com o controle (base do unguento). Lesões cutâneas de cerca de 5mm foram induzidas experimentalmente por um punch, tendo os coelhos sido anestesiados previamente e após 4 (D4) e 14 (D14) dias de tratamento, as lesões foram removidas cirurgicamente e encaminhadas para análise histopatológica. O processo de reparo cutâneo foi avaliado nestes intervalos de tempo através da observação macroscópica, mensuração da área de retração da ferida e avaliação microscópica através da contagem do número de células mononucleares e fibroblastos e dos vasos sanguíneos. O unguento contendo o EH (10 e 20%) demonstrou ser o mais eficaz por acelerar ( $P < 0,01$ ) o processo de regeneração cutânea. Isto demonstra o potencial farmacológico desta planta para uso Veterinário.

**Descritores:** *Momordica charantia*, Cucurbitaceae, cicatrização cutânea, análise histopatológica, observação macroscópica, coelhos.

### ABSTRACT

Among the countless plants used in traditional medicine stands out the *Momordica charantia*, which is winning scientific fame, for many biological and pharmacological properties. This work investigated the healing process on excisional wounds in the skin of rabbits, treated daily with ointment containing 10 and 20% of the hexanic and ethanolic extracts of the leaves of *M. charantia*, compared with the control. A skin wound area of about 5 mm was excised through punch on anaesthetised rabbits and after 4 (D4) and 14 (D14) days of treatment, the lesions were surgically removed and histologically processed. Wound healing activity was determined by macroscopic observation, measure of the area of contraction and microscopic evaluation on the count of the number of fibroblasts and mononuclear inflammatory cells, and blood vessels. The ointment containing HE (10 and 20%) was demonstrated effective for accelerating ( $P < 0,01$ ) the process of cutaneous regeneration. So, the results demonstrate the potential pharmacological of this plant for Veterinary use.

**Key words:** *Momordica charantia*, Cucurbitaceae, cutaneous cicatrization, histopathological analysis, macroscopic observation, rabbits.

## INTRODUÇÃO

A *Momordica charantia* L. é uma planta medicinal, pertencente à família Cucurbitaceae, que vêm ganhando espaço no cenário científico mundial. Constitui uma trepadeira, bastante comum no nordeste brasileiro, sendo popularmente conhecida por melão-de-São-Caetano. Estudos prévios comprovaram inúmeras propriedades farmacológicas desta planta como agente fitoterápico. Dentre estas, destacam-se sua atividade hipoglicemiante [16], antibacteriana [7], antiviral [9], anti-HIV [1], antitumoral [2,14], anti-helmíntica [18] e abortiva [10]. Recentemente, tem aumentado o interesse por drogas obtidas a partir de plantas medicinais, destacando-se aquelas com potencialidade para promover a cicatrização de feridas.

O processo de cicatrização tecidual consiste de um fenômeno fisiológico que se inicia a partir da perda de integridade da pele, gerando uma solução de continuidade que atinge os planos subjacentes em diversos graus, e depende de uma série de reações químicas [6]. Este processo está classicamente dividido em três fases: inflamação, reparação e deposição de matriz extracelular e remodelação.

Existem relatos do uso popular da *M. charantia* como cicatrizante. No entanto, ainda não existe literatura que comprove a atividade cicatrizante da aplicação tópica de extratos desta planta *in vivo*.

Desta forma, o presente trabalho propõe avaliar unguentos à base de extrato hexânico (EH) ou etanólico (EE) de *M. charantia* na regeneração de feridas cutâneas de coelhos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Material vegetal e preparação do extrato

As folhas de *M. charantia* foram coletadas pela manhã no mês de maio de 2005, na cidade de Fortaleza, Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. A identificação botânica da planta foi realizada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Botânica e Biologia da Universidade Federal do Ceará, recebendo o voucher 32441.

Folhas secas (150g) da planta foram colocadas em um balão de vidro com 500 ml de hexano, por 7 dias na ausência de luz. Em seguida, a solução resultante (hexano + folhas) foi filtrada através de um funil. Esta sofreu um processo de evaporação através do evaporador rotatório a 69°C e o extrato foi colocado em banho-maria para total evaporação do solvente. Para a obtenção do extrato etanólico, foi utilizado o resíduo

das folhas após 2 dias de repouso e o mesmo procedimento foi realizado, exceto que o solvente utilizado foi o etanol e a temperatura do rotaevaporador foi 100°C.

### Prospecção fitoquímica dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) de *M. Charantia*

Os extratos obtidos foram submetidos a uma avaliação fitoquímica para detecção ou não de fenóis, taninos, antocianidinas, antocianinas, flavonóides, catequinas, flavonóis, flavononas, flavanonóis, xantonas, esteróides, triterpenóides, saponinas, alcalóides, em EH e EE das folhas de *M.charantia* de acordo com a metodologia descrita por Matos [12].

### Determinação da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) das folhas de *M.charantia*

A atividade antioxidante dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *M.charantia* foi determinada pelo método varredor de radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrihidrazil) [17].

### Preparação do unguento

O unguento foi obtido pela mistura de 10 e ou 20% dos extratos (EH e EE) das folhas de *M. charantia* com uma base de vaselina e lanolina (1:2). As lesões controle foram tratadas com a base do unguento, sem adição dos extratos.

### Animais de experimentação

Foram utilizados seis (06) coelhos da raça Nova Zelândia, pesando 2 kg, com idade de 2 a 6 meses, machos. Os animais foram adquiridos de um estabelecimento comercial, sendo submetidos a um período de quarentena em que foram vermifugados e observados quanto ao estado de saúde geral e só então, destinados à realização dos experimentos. Os animais foram separados em grupos e mantidos em gaiolas no Laboratório de Imunologia e Bioquímica (LIBA) na Universidade Estadual do Ceará (UECE), sob condições adequadas de higiene, luz e temperatura, recebendo ração comercial e água *ad libitum*. Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

### Indução e tratamento das lesões experimentais

Previamente, os coelhos sofreram anestesia geral realizada por via intramuscular na região do quadriceps, utilizando-se cloridrato de ketamina 44 mg.kg<sup>-1</sup>, xilazina 4 mg.kg<sup>-1</sup> e valium 0,43 mg.kg<sup>-1</sup>. Foram pro-

duzidas seis lesões no dorso de cada animal, sendo três de cada lado, paralelamente a coluna vertebral a 2 cm de distância, entre a escápula e a tuberosidade ilíaca com um punch de 5 mm (técnica modificada), incluindo lesionamento da pele, tecido celular subcutâneo e músculo cutâneo do tronco. A identificação das feridas seguiu a sua localização, portanto, foram denominadas craniais direita (CRD), craniais esquerda (CRE), centrais direita (CND), centrais esquerda (CNE), caudais direita (CDD) e caudais esquerda (CDE) [3].

Em cada ferida, foi aplicada topicamente e de forma padronizada: CRD e CRE (base), CND e CNE (EH ou EE a 10% + base), CDD e CDE (EH ou EE a 20% + base). Cada tratamento foi administrado uma vez ao dia no mesmo horário. As lesões do lado direito foram tratadas por 4 dias e as do lado esquerdo por 14 dias. No D4 e no D14, as lesões foram seccionadas e encaminhadas para análise histológica.

#### **Avaliação das lesões**

As lesões foram submetidas a avaliação macroscópica diária, verificando-se os seguintes parâmetros: edema, hiperemia e presença de exsudato [11].

Foi também realizado um estudo morfométrico visando a mensuração do halo da ferida no dia da indução da ferida no 4º e 14º dia pós-indução, através da colocação de plástico transparente sobre a ferida e demarcação com caneta de retroprojektor, submetendo-se este traçado a mensuração com planímetro. A área de retração da ferida foi calculada subtraindo-se a área previamente estipulada ( $A_0 = 5 \text{ mm}$ ) da área da ferida em D4 e D14 ( $R = A_0 - A$ ). Os resultados das diferenças entre as feridas experimentais e controle foram comparadas.

Após a realização do protocolo anestésico, similar ao utilizado para indução das feridas, as lesões foram removidas e submetidas a fixação em formol tamponado a 10% por 48h, seguida de desidratação em álcool a 70%. As amostras foram embebidas em parafina e secções de 5 mm de espessura foram preparadas. As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina (H&E) e observadas ao microscópio óptico. Para análise histopatológica foram avaliados três sítios de cada corte histológico (3 cortes/animal) em cada intervalo de tempo. Nestas áreas foi realizada a contagem do número de células mononucleares inflamatórias, fibroblastos e vasos sanguíneos de cada sítio (1000X).

#### **Análise estatística**

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para todas as medidas obtidas relativas a área da ferida

(mm), sendo os dados posteriormente submetidos ao teste t Student, aceitando-se 5% ( $P < 0,05$ ) como nível de significância para interpretação dos resultados. Os resultados relativos à contagem de células e vasos foram tabulados e analisados através do teste estatístico Kruskal Wallis.

### **RESULTADOS**

#### **Prospecção fitoquímica e atividade antioxidante *in vitro* dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) de *M. Charantia***

O estudo fitoquímico revelou a presença de esteróides e a ausência para alcalóides, saponinas, catequinas, taninos, fenóis, flavonas, flavonóis, leucoantocianidinas, xantonas, triterpenóides, resinas e alcalóides em ambos os extratos.

Os resultados da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos (EH e EE) das folhas de *Momordica charantia* pelo método de varredura do radical livre DPPH demonstraram que o EE das folhas de *M. charantia* nas doses de 2, 5 e 10 mg.mL<sup>-1</sup> apresentaram índice de varredura (IV) de 28,66; 38,73 e 39,75%, respectivamente. O EH das folhas de *M. charantia* nas doses de 2, 5 e 10 mg.mL<sup>-1</sup> apresentaram IV de 40,07; 76,64 e 79,79%, respectivamente. Os grupos controle BHT e quercetina apresentaram IV de 90,89 e 90,32%, respectivamente. Desta forma, o EH demonstrou maior capacidade em captar os radicais livres.

#### **Avaliação macroscópica**

A avaliação macroscópica foi realizada diariamente até o D14. Nesse estudo foi observado que as lesões teciduais experimentais nos grupos controle e tratados com o EE (10 e 20%) de *M. charantia* obedeceram à mesma seqüência de eventos dependente do tempo. No entanto, os grupos tratados com EH (10 e 20%) apresentaram uma evolução cicatricial mais precoce em relação ao controle. No decorrer de toda a investigação foram observados que os sinais de inflamação como edema, hiperemia e presença de exsudato foram discretos nas feridas tratadas com unguento à base de EH. Nos animais tratados com unguento à base de EE, foi verificada moderada exsudação a partir do quarto dia permanecendo até o último dia analisado (D14).

#### **Estudo morfométrico**

A Tabela 1 demonstra os efeitos do EH e EE das folhas de *M.charantia* sobre a área de retração de lesões cutâneas determinada pela mensuração do halo da ferida após 4 e 14 dias de tratamento.

O estudo morfométrico revelou que houve aumento significativo ( $P < 0,05$ ) da área de retração das feridas em todos os tratamentos no decorrer dos dias analisados.

Os unguentos associados ao EH (10 e 20%) induziram maior área de retração em relação ao controle ( $P < 0,05$ ). Em contrapartida os unguentos a base de EE não exerceram efeito significativo na retração das feridas.

### Estudo histológico

A contagem de células mononucleares, fibroblastos e vasos sanguíneos na região da lesão para todos os tratamentos avaliados está apresentada nas Tabelas 2, 3 e 4.

A Tabela 2 indica que o unguento que demonstrou capacidade de modular a resposta inflamatória foi

aquele associado ao EH em ambas as concentrações, já que este gerou uma redução significativa ( $P < 0,01$ ) na quantidade de células mononucleares em relação ao controle nos dois intervalos de tempo analisados.

No tocante a quantificação de fibroblastos expressa na Tabela 3 foi observado que houve uma redução significativa ( $P < 0,01$ ) no número de fibroblastos entre os grupos tratados com o unguento a base de EH (10 e a 20%) em relação ao controle no tempo 14 dias.

A Tabela 4 indica que a quantidade de vasos sanguíneos foi significativamente menor ( $P < 0,01$ ) no grupo tratado com o unguento associado ao EH (10 e 20%) em relação ao controle no tempo de 14 dias.

O EE não apresentou ação sobre o processo de regeneração cutânea quanto aos parâmetros analisados, não diferindo significativamente das lesões tratadas apenas com a base do unguento ( $P > 0,01$ ).

**Tabela 1.** Efeito dos tratamentos com os unguentos à base dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) sobre a retração da área (mm) da lesão com 4 (D4) e 14 (D14) dias de tratamento. Os dados são representados em média e desvio padrão (n=3 animais/grupos).

Tratamentos	Concentração (%)	Área (mm)	
		D4	D14
Controle	-	2,13 ± 0,06 <sup>a,A</sup>	2,78 ± 0,06 <sup>a,B</sup>
Ungüento (Lanolina - Glicerina 2:1)	EH	10	2,58 ± 0,08 <sup>b,A</sup>
		20	2,69 ± 0,17 <sup>b,A</sup>
	EE	10	2,17 ± 0,05 <sup>a,A</sup>
		20	2,21 ± 0,11 <sup>a,A</sup>
			3,37 ± 0,09 <sup>b,B</sup>
			3,50 ± 0,12 <sup>b,B</sup>
			2,88 ± 0,10 <sup>a,B</sup>
			2,96 ± 0,10 <sup>a,B</sup>

Letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) na mesma coluna em relação ao grupo controle. Letras maiúsculas indicam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre D4 e D14.

**Tabela 2.** Efeito dos tratamentos com os unguentos à base dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) sobre as células mononucleares com 4 (D4) e 14 (D14) dias de tratamento. Os dados são representados em média e desvio padrão (n=3 animais/grupos).

Tratamentos	Concentração (%)	N° células mononucleares	
		D4	D14
Controle	-	32,66 ± 0,83	12,12 ± 0,14
Ungüento (Lanolina - Glicerina 2:1)	EH	10	14,83 ± 1,52 <sup>*</sup>
		20	13,45 ± 1,62 <sup>*</sup>
	EE	10	27,12 ± 1,00
		20	28,35 ± 1,75
			4,20 ± 0,18 <sup>**</sup>
			4,33 ± 0,13 <sup>**</sup>
			10,40 ± 0,10
			10,83 ± 0,07

\*Indica diferença significativa ( $P < 0,01$ ) no D4 em relação ao grupo controle. \*\*Indica diferença significativa ( $P < 0,01$ ) no D14 em relação ao grupo controle.

**Tabela 3.** Efeito dos tratamentos com os unguentos à base dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) sobre os fibroblastos com 4 (D4) e 14 (D14) dias de tratamento. Os dados são representados em média e desvio padrão (n=3 animais/grupos).

Tratamentos	Concentração (%)	N° fibroblastos	
		D4	D14
Controle	-	26,00 ± 2,25	23,33 ± 1,20
Ungüento (Lanolina - Glicerina 2:1)	EH	10	20,90 ± 0,86
		20	21,43 ± 1,28
	EE	10	21,84 ± 0,83
		20	22,46 ± 1,02

\*Indica diferença significativa (P<0,01) no D14 em relação ao grupo controle.

**Tabela 4.** Efeito dos tratamentos com os unguentos à base dos extratos hexânico (EH) e etanólico (EE) sobre a formação dos vasos sanguíneos com 4 (D4) e 14 (D14) dias de tratamento. Os dados são representados em média e desvio padrão (n=3 animais/grupos).

Tratamentos	Concentração (%)	N° vasos sanguíneos	
		D4	D14
Controle	-	7,23 ± 0,50	6,78 ± 0,70
Ungüento (Lanolina - Glicerina 2:1)	EH	10	6,48 ± 0,56
		20	6,74 ± 0,40
	EE	10	6,97 ± 0,71
		20	6,39 ± 0,79

\*Indica diferença significativa (P<0,01) no D14 em relação ao grupo controle.

### DISCUSSÃO

A importância da pele como barreira de proteção contra agentes nocivos [13] aliada a alta incidência de feridas resultantes de acidentes traumáticos em animais domésticos motivaram a realização deste experimento. Além disto, os constantes avanços científicos no ramo da fitoterapia levando a mudanças nos vários conceitos tradicionais no tratamento de feridas reforçaram a necessidade de estudos nesta área.

As etapas do processo de cicatrização foram observadas no presente trabalho tanto nas lesões tratadas com EH e EE de *M. charantia*, como nas não-tratadas, conforme os dias analisados. A evolução cicatricial das feridas experimentais foi considerada clinicamente normal.

A análise macroscópica revelou que a presença de exsudato no grupo controle e tratado com EE prejudicou a cicatrização, já que este é capaz de

promover a desagregação do tecido de granulação em formação e o desenvolvimento de microorganismos.

As infecções microbianas causam um aumento nas complicações no processo de cicatrização. Estudos prévios revelaram que a *M.charantia* apresenta um amplo espectro de atividade antimicrobiana [7].

A medida da retração da área do processo inflamatório revelou que durante o tratamento, houve diferença significativa (P<0,01) nas áreas de retração das lesões que receberam unguento a base do EH de *M. charantia*, as quais cicatrizaram com maior rapidez que às lesões controle e as tratadas com unguento associado ao EE.

O influxo de macrófagos e neutrófilos para o sítio da lesão durante a fase inflamatória revelou uma redução (P<0,01) destas células nos grupos tratados com o unguento à base de EH (10 e 20%) em relação ao controle no D4, indicando que este tratamento foi

capaz de modular o processo inflamatório neste intervalo de tempo.

Com a presença local de macrófagos e a produção e liberação dos mediadores químicos produzidos por eles, a migração e ativação de fibroblastos é intensificada. Essas células são as principais responsáveis pela formação de tecido de granulação, sintetizando ácido hialurônico, fibronectina, colágenos tipos I e II, elastina e proteases, como a collagenase, importante para o debridamento e o remodelamento das fibras colágenas. O aumento de fibroblastos na regeneração tecidual encontra seu ápice na fase proliferativa deste processo, que ocorre geralmente entre o 3° e o 10° dia após a lesão. Para a eficiência da fibroplasia é necessária a ocorrência em paralelo da neovascularização da região, já que esta permite a troca de gases e a nutrição das células metabolicamente ativas [4,5]. Além da ação direta de fatores de crescimento sobre as células da vasculatura, a indução da angiogênese é, em parte, creditada à baixa tensão de oxigênio característica que ocorre no centro de uma ferida [8].

No início da fase de remodelação, que corresponde aos grupos analisados no D14 neste experimento, observa-se redução no número de células mononucleares, fibroblastos e vasos sanguíneos (Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente) e isto se justifica pela mudança de fase do processo inflamatório.

Numa etapa avançada do reparo tecidual acredita-se que os fibroblastos estejam relacionados com o fenômeno de remodelação dos feixes de colágeno, no sentido de conferir maior resistência a este tecido

lesionado [15]. Isto reforça ainda mais a idéia de que o EH acelerou a atividade de fibroblastos fazendo com que o tecido lesionado apresentasse uma organização muito maior em comparação ao controle.

Nos grupos experimentais tratados com unguento à base do EH houve uma redução significativa no número de fibroblastos e vasos sanguíneos em relação ao controle no D14, sugerindo que este extrato acelerou a reparação tecidual na fase tardia da reação inflamatória, possibilitando o alcance da fase de remodelamento mais precocemente que os demais grupos.

A sinergia de todos esses fatores avaliados pode estar envolvida com a regeneração cutânea observada nas lesões tratadas com os extratos estudados. Os efeitos sinérgicos foram mais pronunciados nas lesões tratadas com unguento associado ao EH de *M. charantia*, e isso têm sido atribuído às propriedades anti-radicaais observadas no extrato hexânico e aos constituintes imunoativos presentes no extrato. No entanto, maiores estudos são necessários para desvendar esse mecanismo de ação.

#### CONCLUSÃO

O unguento associado ao extrato hexânico (EH) das folhas de *M.charantia*, dentro dos parâmetros utilizados, demonstra ser eficaz por acelerar o processo de regeneração cutânea.

**Agradecimentos.** À Fundação Cearense de Amparo a Pesquisa (FUNCAP), por ter concedido apoio financeiro. Agradecimento especial à Dr<sup>a</sup> Selene Maia de Moraes.

#### REFERÊNCIAS

- 1 **Au T.K., Collins R.A., Lan T.L., Ng T.B., Fong W.P. & Wan D.C. 2000.** The plant ribosome inactivating proteins luffin and saporin are potent inhibitors of HIV-1 integrase. *FEBS Letters*. 471: 169-172.
- 2 **Cunnick J.E., Sakamoto K., Chapes S.K., Fortner G.W & Takemoto D.J. 1990.** Induction of tumor cytotoxic immune cells using a protein from the bitter melon (*Momordica charantia*). *Cellular Immunology*. 126: 278-289.
- 3 **Dorneles D., Wouk A.F., Pontarolo R. & Oliveira A.B. 2003.** Efeito de *Aloe Vera* Linné sobre a cicatrização de feridas de pele em coelhos. In: VII Congresso Virtual Hispanoamericano de Anatomia Patológica y I Congresso de Preparaciones Virtuales por Internet. (Pará, Brasil). pp. 39-46.
- 4 **Eckersley J. R. T. & Dudley H. A. F. 1998.** Wound and wound healing. *British Medical Bulletin*. 44: 423-436.
- 5 **Guidugli-Neto J. 1987.** The effect of roentgen radiation on the capillary sprontsonal superficial loops of granulation tissue I: quantitative study of the vascular volume. *Revista de Odontologia da Universidade de São Paulo*. 1: 6-8.
- 6 **Johnston D. E. 1990.** Wound healing in skin. *Veterinary Clinics of North America: small animal practice*. 20: 1-25.
- 7 **Khan M.R. 1998.** *Momordica charantia* and *Allivum sativum*: broad-spectrum antibacterial activity. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 20: 151-158.
- 8 **Knighton D. R., Silver I. & Hunt T. K. 1981.** Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery*. 90: 262- 270.
- 9 **Lee-Huang S., Huang P.L., Cheng H. C., Huang P.L., Bourinbaiar A., Huang H. I. & Pung H. F. 1995.** Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MAP30 from bitter mellon. *Gene*. 61: 151-156.

- 10 **Leung S.O., Yeung H.W. & Leung K.N. 1987.** The immunosuppressive activities of two abortifacient proteins isolated from the seeds of bitter melon (*Momordica charantia*). *Immunopharmacology*. 13: 159–171.
- 11 **Martins P.S., Alves A.L.G., Hussni C.A., Sequeira J.L., Nicolleti J.L.M. & Thomasian A. 2003.** Comparação entre fitoterápicos na cicatrização de pele em equinos. *Archives of Veterinary Science*. 8: 1-7.
- 12 **Matos F.J.A. 1997.** *Introdução a Fitoquímica Experimental*. 2ª edição. Fortaleza: Imprensa Universitária, Universidade Federal do Ceará. 139p.
- 13 **Oliveira H.P. 1992.** Traumatismo nos animais domésticos. *Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária de Belo Horizonte*. 1:1-57.
- 14 **Ribak S.M., Lin J.J. & Newton D.L. 1994.** *In vitro* anti-tumor activity of the plant ribosome inactivating proteins MAP30 and GAP31. *International Journal of Oncology*. 5: 88-94.
- 15 **Simões M.J., A. Uzunian, O.A. Mora & W.S. Sasso. 1985.** Aspectos ultra-estruturais do processo de reparação da pele de ratos albinos. *Revista Pauista de Medicina*. 103: 123-126.
- 16 **Virdi J., Sivakami S., Shahani S., Suthar A.C. Banavalikar M.M. & Biyani M.K. 2003.** Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *Journal of Ethnopharmacology*. 88: 107–111.
- 17 **Yepez B., Espinosa M., López S. & Bolamos G. 2002.** Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria*. 194: 879.
- 18 **Yesilada E., Sezik E., Honda G., Takaishi Y., Takeda Y. & Tanaka T. 1999.** Traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*. 64: 199-206.