

ATIVIDADE ANTICOAGULANTE DO EXTRATO AQUOSO, HIDROETANÓLICO E ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Tropaeolum majus*

Ana Paula Ostrowski¹, Sérgio Alexandre Valentini², Mariana Felgueira Pavanelli².

RESUMO

Com o passar dos anos, a experiência com anticoagulantes já existentes despertou a necessidade por novas drogas. O objetivo deste estudo foi investigar a atividade anticoagulante de *Tropaeolum majus* L. (Capuchinha) *in vivo* e *in vitro*. Para os testes *in vivo*, administrou-se o extrato hidroalcoólico (300 mg/kg) e o extrato aquoso (500 mg/kg) desta planta em ratos Wistar machos. Após 28 dias de tratamento, foi realizada avaliação do Tempo de Ativação da Protrombina, Tempo de Ativação Parcial da Tromboplastina (TTPA) e Tempo de Sangramento (TS). Foi possível observar, nos testes *in vivo*, um prolongamento (90%) do TTPA e TS no grupo administrado com extrato hidroalcoólico. Nos testes *in vitro*, foi realizado um ensaio com amostra de plasma humano adicionando-se diferentes proporções (1:1 e 1:5) de extrato hidroalcoólico e óleo essencial da planta. Então, realizaram-se os testes de TAP e TTPA, onde foi observada alteração no TAP somente nos grupos tratados com a proporção 1:1. A atividade anticoagulante pode estar relacionada com os compostos flavonóides presentes nesta planta. Estudos mais aprofundados acerca da atividade anticoagulante desta planta, utilizando tanto o óleo essencial, bem como o extrato hidroalcoólico e aquoso, devem ser realizados, principalmente *in vivo*, já que dessa forma é possível uma melhor avaliação dos efeitos secundários do vegetal no metabolismo animal.

Palavras-chave: atividade anticoagulante; *Tropaeolum majus*; coagulação; ratos Wistar.

ANTICOAGULANT ACTIVITY OF AQUEOUS AND HYDROETHANOLIC EXTRACT AND ESSENTIAL OIL OF LEAVES OF *Tropaeolum majus*

ABSTRACT

Over the years, experience with existing anticoagulants sparked the need for new drugs. The objective of this study was to investigate the anticoagulant activity of *Tropaeolum majus* L. (Capuchin) *in vivo* and *in vitro*. For *in vivo* tests, alcoholic extract (300 mg/kg) and aqueous extract (500 mg/kg) of Capuchin were administered to male Wistar rats. After 28 days of treatment, was carried out an evaluation of Prothrombin Time, Bleeding Time and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT). In *in vivo* tests, was observed an extension (90%) of Bleeding Time and APTT in group treated with alcoholic extract. In *in vitro* tests, trials were carried out with human plasma sample by adding different ratios (1:1 and 1:5) of hydroalcoholic extract and essential oil of the plant. Then, Prothrombin Time and APTT tests were carried out. Change was observed in Prothrombin Time only in groups treated with 1:1 ratio. The anticoagulant activity may be related to flavonoid compounds present in this plant. Further studies about the anticoagulant activity of Capuchin using essential oil, aqueous extract and alcoholic extract should be performed, especially *in vivo*, because in this way it is possible to better assess the side effects of this plant in animal metabolism.

Keywords: anticoagulant activity; *Tropaeolum majus*; coagulation; Wistar rats.

INTRODUÇÃO

O equilíbrio funcional da hemostasia é garantido por uma variedade de mecanismos que têm a finalidade de regulação do fluxo sanguíneo, evitando o aparecimento de distúrbios hemorrágicos bem como a ativação excessiva da coagulação, que causa formação inadequada de fibrina podendo até levar a oclusão vascular (1).

Décadas de experiência com a heparina e antagonistas da vitamina K incentivaram as buscas por novos anticoagulantes, as quais vêm evoluindo por meio de diversas pesquisas e

estudos que inspiram na natureza, como os testes em animais hematófagos, insetos e serpentes (2).

Os tratamentos com drogas anticoagulantes podem trazer efeitos deletérios ao paciente, como hemorragias, por exemplo, fazendo com que vários usuários destas drogas tenham que realizar exames periódicos para avaliar os níveis de suas proteínas da coagulação. Estes e outros inconvenientes e limitações nos tratamentos com drogas anticoagulantes acabam incentivando a busca por novas opções terapêuticas. Dessa forma, um anticoagulante ideal, além de ser eficaz, deve apresentar menor risco hemorrágico,

¹ Farmacêutica. Acadêmica do Curso de Pós Graduação em Análises Clínicas da Faculdade Integrado de Campo Mourão, Paraná, Brasil.

² Mestre. Docente do Curso de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão, Paraná, Brasil.



ausência de efeitos colaterais, de interação com outras medicações ou alimentos, ser de fácil administração, confortável para o paciente e para equipe médica, sem necessidade de controle laboratorial, de baixo custo e com antídoto, caso necessário (3).

As plantas oferecem grandes opções de escolha para a investigação científica e criação de novas moléculas, constituindo um mercado em potencial expansão (3-5). Nesse contexto, a fitoterapia deve ser considerada como uma ciência que evoluiu e vem sendo estudada, aperfeiçoada e aplicada por diversas culturas, ao longo dos tempos (6). Aliado a isto, a sociedade atual está passando por um momento de "naturalização", onde as pessoas buscam por hábitos mais saudáveis de vida. Isto reflete positivamente no aumento da produção dos medicamentos fitoterápicos, uma vez que estes são mais baratos, menos tóxicos e vem sendo amplamente utilizados como forma alternativa ou complementar aos medicamentos alopáticos (7,8).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), tratamentos à base de plantas constituem na forma mais popular da medicina tradicional. Em alguns países da Ásia e África, 80% da população dependem desta para cuidados de saúde primários, sendo que em muitos países desenvolvidos, de 70% a 80% da população têm utilizado-a de alguma forma (9).

Uma importante planta medicinal, natural dos Andes da América do Sul e amplamente distribuída no mundo todo, é o *Tropaeolum majus*, o qual está inserido na família Tropaeolaceae (10). No Brasil é popularmente conhecido como "chaguinha", "capuchinha" ou "nastúrcio" (8). A população tem utilizado as folhas desta planta, em forma de chá, para o tratamento de processos inflamatórios, incluindo doenças cardiovasculares, hipertensão, infecções do trato genitourinário, edema, asma e constipação (8-12).

T. majus vem sendo utilizado em estudos que buscam analisar suas inúmeras aplicações medicinais (14-18), porém resultados in vivo referentes à sua ação anticoagulante não foram realizados até o presente momento.

É necessário conhecer a atividade anticoagulante de *T. majus* para transpor os resultados obtidos à população, principais usuários dessas plantas na forma de chás. Visto

que a fitoterapia faz parte da cultura de vários povos, a comprovação da ação terapêutica das plantas utilizadas popularmente pode favorecer o aumento do consumo destes produtos. Aliado a isto, a população tem questionando os perigos do uso abusivo e irracional dos medicamentos alopáticos e procuram substituí-los por plantas medicinais (6).

A procura nesta planta por compostos que apresentem atividade anticoagulante é de grande importância uma vez que são muitas as condições que predispõem um indivíduo a desenvolver distúrbios na hemostasia (14). Estudos que avaliaram os efeitos farmacológicos do *T. majus* mostraram que o extrato hidroalcoólico possui atividade antitrombina (14,15)

Como a atividade anticoagulante desta droga vegetal não está totalmente estabelecida, este trabalho teve por objetivo avaliar in vitro, no plasma humano, a atividade anticoagulante do extrato hidroalcoólico e óleo essencial das folhas de *T. majus* e, além disso, investigar in vivo, em ratos da variedade Wistar, a atividade anticoagulante do extrato hidroalcoólico e extrato aquoso da planta.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

O material vegetal constituiu-se de partes aéreas (folhas) bem desenvolvidas de *T. majus*, as quais foram adquiridas no início do mês de Março de 2013, no município de Campo Limpo Paulista, em altitude de 745 m acima do nível do mar (Latitude: -23° 12' 23" e Longitude: -46° 47' 04"), localizado no estado de São Paulo, Brasil. Uma exsiccata do material botânico foi depositada no herbário da Faculdade Integrado de Campo Mourão sob número de registro 1080.

Obtenção do óleo essencial

Para a extração do óleo essencial de *T. majus* (OETM) foram utilizadas folhas frescas da planta. O procedimento foi realizado no aparelho de hidrodestilação do tipo Clevenger. A destilação durou de 3 - 4 horas (16).

Obtenção do extrato aquoso

O extrato aquoso de *T. majus* (EATM) foi obtido por infusão, no qual utilizou a planta seca e triturada. Este método de obtenção do extrato foi preconizado pelo uso popular (12), na

concentração de 10%, e preparados imediatamente antes da utilização. O infuso resultante foi filtrado (19) e imediatamente administrado aos animais.

As folhas frescas permaneceram por 12 dias em local seco, à temperatura ambiente ao abrigo da luz. Posteriormente, a planta seca foi submetida à pesagem, pulverização em moinho de facas tipo Willey, separada em alíquotas de 10 g e, em seguida, o material foi acondicionado em sacos de papel craft até sua utilização.

Obtenção do extrato hidroalcoólico

Para obtenção do extrato hidroalcoólico de *T. majus* (EHTM) foram realizados 2 processos: infusão e maceração. A infusão foi realizada com 100 g da planta fresca e aproximadamente 1000 mL de água destilada por 2 dias. O conteúdo resultante da infusão foi filtrado e macerado a frio com álcool 92% por 10 dias em uma proporção de 300 mL do conteúdo para 700 mL de álcool. Após os 10 dias, foi colocado 200 mL do extrato no rotaevaporador. O extrato obtido foi mantido sob temperatura média de 5°C em frasco âmbar.

Experimento *in vivo*

Foram utilizados 24 ratos (*Rattus norvegicus*, variedade Wistar), machos, com 21 dias de idade, pesando entre 200 e 300 g, procedentes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Os animais permaneceram acondicionados em caixas plásticas com grades cromadas e cama de maravalha estéril, em condições de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade ($45\% \pm 15\%$) e de ciclo claro/escuro (12 horas) apropriadas. Estes tiveram livre acesso à água potável e ração própria para roedores. Respeitou-se o período de aclimação de sete dias antes do início do experimento e, após este período, os animais foram sorteados para compor os quatro grupos do experimento.

Descrição dos grupos de estudo

Os animais foram distribuídos em 4 grupos, contendo 6 animais cada, os quais estão relacionados detalhadamente na Tabela 1.

Tabela 1. Descrição dos grupos experimentais de acordo com número de animais, terapia submetida e posologia.

Grupo	Nº de animais	Terapia	Esquema terapêutico	Duração do tratamento	Fonte
Controle Negativo (CN)	6	Solução salina 0,9%	10 mL/kg-1	28 dias	(20)
Controle Positivo (CP)	6	Varfarina 5mg	0,4 mg/kg/dia	6 dias	(21)
III	6	EHTM*	300 mg/kg	28 dias	(19)
IV	6	EATM**	500 mg/kg	28 dias	(19)

* EHTM: Extrato hidroetanólico de *T. majus*;

** EATM: Extrato aquoso de *T. majus*;

Os grupos receberam o tratamento descrito anteriormente, sempre na mesma hora do dia (18h00m). A administração do tratamento fora realizada por gavagem com auxílio de uma sonda orogástrica rígida

Coleta das amostras e testes de avaliação da hemostasia primária e secundária

Para avaliação da hemostasia primária foi realizado semanalmente o teste do Tempo

de Sangramento (TS). Para este fim foi realizado um pequeno corte na cauda dos animais, a 3 mm da extremidade da ponta. O cronômetro era disparado após o aparecimento da primeira gota de sangue e, com o auxílio de um papel filtro, absorvia-se cada gota de sangue formada, então o cronômetro era parado quando não havia mais gotas de sangue sendo formadas e o TS anotado (22).

Para avaliação da hemostasia secundária, fora coletado semanalmente sangue da veia caudal em tubos contendo anticoagulante citrato de sódio tamponado a 0,109 M. Posteriormente as amostras foram submetidas à centrifugação a 1500 rpm por 5 minutos para obtenção do plasma.

O plasma obtido foi utilizado para realização dos testes de Tempo de Ativação da Protrombina (TAP) e pelo Tempo de Ativação Parcial da Tromboplastina (TTPa ou KPTT).

Eutanásia e aspectos éticos

Ao término dos experimentos os animais foram anestesiados com 120 mg/kg de cetamina 2% e 10 mg/kg de xilazina 2% via intraperitoneal. Após atingir o plano anestésico, com ausência de reflexo palpebral, os animais foram submetidos à eutanásia por administração intracardiaca de 3 mL de cloreto de potássio (KCl).

Todos os protocolos utilizados neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade Integrado de Campo Mourão sob o número 380, segundo os princípios éticos na experimentação animal estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Análise dos dados

As médias das variáveis analisadas foram comparadas entre si por meio do teste do qui-quadrado (χ^2) com auxílio do software Epi-Info.

Ensaio *in vitro*

Foi utilizado plasma humano citratado de uma doadora adulta clinicamente saudável.

Diferentes parâmetros foram analisados para investigar uma possível atividade anticoagulante, sob diferentes proporções, de *T. majus*. Para tanto, a amostra foi distribuída em 5 grupos:

- Grupo Controle Negativo: neste grupo a amostra não recebeu tratamento;
- Grupo plasma + OETM na proporção 1:5;
- Grupo plasma + OETM na proporção 1:1;
- Grupo plasma + EHTM na proporção 1:5;
- Grupo plasma + EHTM na proporção 1:1.

Com as amostras dos grupos descritos acima foram realizados os testes de TAP e TTPa em triplicata, com auxílio de um coagulômetro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento *in vivo*

Avaliação da hemostasia primária

De acordo com os testes realizados, o tempo médio de sangramento, correspondente ao período de 4 semanas, do grupo controle negativo foi de 123 ± 15 s (Figura 1). Para o grupo controle positivo, durante os 6 dias de tratamento, foi de 180 ± 29 s, diferença esta estatisticamente significativa ($p=0,02$).

No grupo EHTM, não houve influência significativa nos níveis de TS nas duas primeiras semanas de tratamento, entretanto os valores aumentaram na semana seguinte, onde o EHTM começou a apresentar influência na função plaquetária (prolongamento de 36,06%). Após isso, o tempo permaneceu constante até a quarta semana de tratamento. O TS da quarta semana apresentou-se semelhante ao tempo do grupo controle positivo e, comparando-se ao grupo controle negativo, apresentou um prolongamento de 50,91% (Figura 1). Este grupo apresentou um prolongamento no TS de, aproximadamente, 35% no que se refere aos tempos da primeira e quarta semana de tratamento. O EHTM, portanto, exerceu ação sobre a função plaquetária.

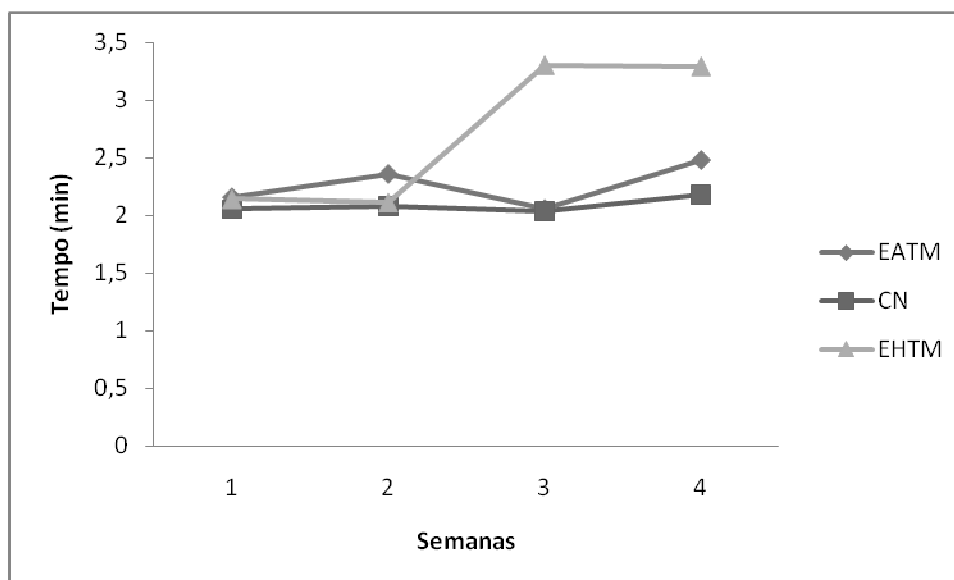


Figura 1. Variação das médias do Tempo de Sangramento em um período de 28 dias (4 semanas) nos grupos: Controle Negativo (CN); Extrato hidroalcoólico de *T. majus*(EHTM) e Extrato aquoso de *T. majus*(EATM).

No grupo EATM, a influência sobre a função plaquetária foi observada na segunda semana de tratamento (prolongamento de 8,4% no TS). Houve uma queda transitória (encurtamento de 14,56%) do TS na terceira semana, porém os valores voltaram a aumentar na semana seguinte (aumento de 16,93%). Em relação ao grupo controle positivo, o TS da quarta semana de tratamento do EATM apresentou uma diminuição de 24,62% e, um prolongamento de 13,46%, em relação ao grupo CN. O grupo apresentou um prolongamento no TS de, aproximadamente, 13% quando se compara os tempos da primeira e quarta semana de tratamento, mostrando que houve uma interferência na função plaquetária, porém não tão satisfatória quando comparado ao grupo tratado com Varfarina.

A partir dos resultados com os extratos aquoso e hidroetanólico, ficou evidente que o efeito frente à função plaquetária foi mais significativo ($p=0,02$) no grupo administrado com o EHTM. Apesar do efeito ter sido mais rápido no grupo submetido à administração do EATM, o grupo do EHTM apresentou TS mais prolongado, após os 28 dias de tratamento. Dessa forma, pode-se optar pela utilização do EATM como agente antitrombótico, por apresentar menor risco de sangramentos em relação à Varfarina e ao EHTM. Estudos afirmam que o anticoagulante ideal deve

exercer sua função sem aumentar substancialmente o risco de hemorragias (3,23).

Estes resultados fornecem subsídios para o aprofundamento de pesquisas que realizem testes como contagem de plaquetas e ensaios de toxicidade. Além de testar o EHTM e EATM em outras concentrações e dosagens e, ainda, realizar testes com os compostos fenólicos isolados, para uma melhor investigação da atividade anticoagulante desta planta.

Avaliação da hemostasia secundária

Para a avaliação da hemostasia secundária foram realizados os testes de TAP e TTPA. As coletas de sangue eram realizadas 1 hora após o tratamento de cada grupo, visto que a concentração máxima no sangue de Varfarina (administrada no grupo controle positivo) é observada dentro de 1 hora após sua ingestão por via oral.

Na avaliação *in vivo* das vias intrínseca e extrínseca da coagulação, não foi encontrada atividade anticoagulante notável nesta última via e para nenhum dos extratos testados. Um estudo *in vitro* realizado anteriormente (15) mostrou que o princípio ativo de *T. majus* (flavonoide) possui uma lipofilicidade intermediária. Desta forma tanto o solvente mais apolar (n-hexano) quanto o menos polar (água) são incapazes de retê-lo

em quantidade suficiente para prolongar o tempo de protrombina. Isso pode justificar o não prolongamento deste teste *in vivo*.

Entretanto, nos testes de TTPa, foi possível observar que para o grupo tratado com o EHTM, os valores obtidos evoluíram a partir da terceira semana de administração do extrato (Figura 2). Este grupo apresentou um aumento notável nos testes de TTPa, da

segunda para a terceira semana (90,30%), e também, da terceira para a quarta semana (aumento de 63,70%). Este resultado sugere que a droga vegetal utilizada neste trabalho pode possuir ação em alguma(s) proteína(s) da via intrínseca da coagulação.

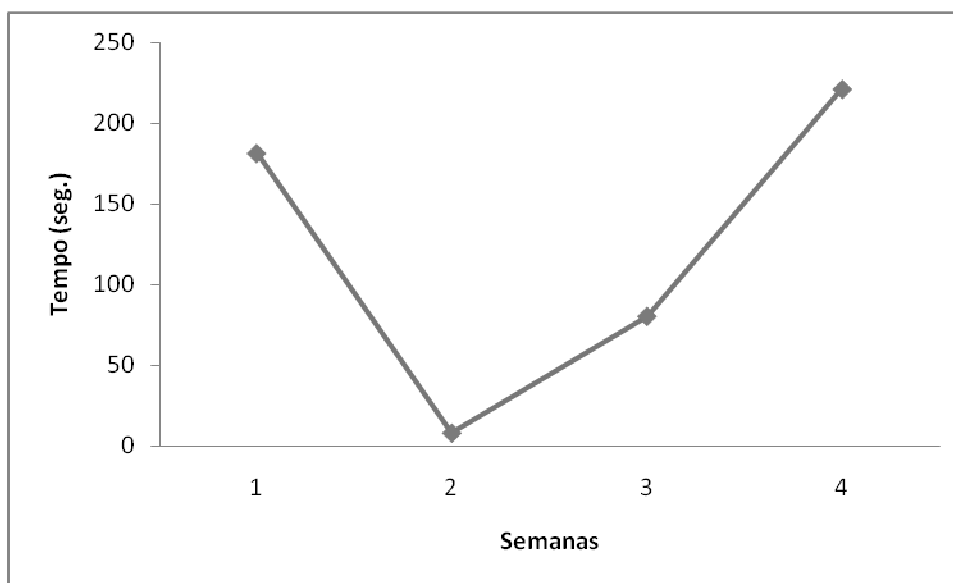


Figura 2. Variação das médias do Tempo de Ativação Parcial da Tromboplastina (TTPa) em um período de 28 dias (4 semanas) no Grupo submetido à administração do EHTM.

Ensaio *in vitro*

A partir da hidrodestilação realizada, não foi possível a realização de testes com um número maior de amostras, visto que o rendimento do OETM fora extremamente baixo.

No presente ensaio, o EHTM influenciou somente a via extrínseca da coagulação, já que os valores de TAP se prolongaram na proporção 1:1, apresentando um valor 21,66% maior quando comparado ao valor de referência (24) e 23,57% maior quando comparado ao grupo controle negativo. Da mesma forma o OETM prolongou o TAP quando testado na proporção 1:1, onde se encontrou um prolongamento de 24,39%, em relação ao grupo controle negativo e de 27,5% em relação ao valor de referência (24). Tanto o extrato hidroalcoólico quanto o óleo demonstraram não possuir ação sob a via intrínseca da coagulação, pois os valores do

TTPa apresentaram-se semelhantes aos do grupo controle negativo e dentro dos valores de referência.

Ensaio *in vitro* realizados anteriormente apresentaram atividade anticoagulante no extrato hidroalcoólico das folhas de *T. majus*. Estes estudos mostraram que o princípio ativo age diretamente sobre a trombina e não sobre o fibrinogênio, e sugerem que a inibição da atividade coagulante da trombina seja devida aos flavonoides que estão presentes em uma concentração de $14,63\% \pm 0,14$ nas folhas frescas da planta (14).

Estudos fitoquímicos demonstraram a presença de isotiocianato de benzila, ácidos graxos (ácido erúico, oléico e linoléico), glucosinolatos (benzilglucosinolatos) e flavonoides (isoquercitrina, quercetina e kaempferol) nas sementes e folhas de *T. majus* (10,12,13). Pesquisas utilizando somente as folhas desta planta isolaram o glucotropaeolin e sinalbin, além do triterpeno tetracíclico: cucurbitacina (25).

Entretanto, são escassos os estudos a respeito do óleo essencial deste vegetal. Pesquisas acerca dos compostos do óleo essencial provindo das folhas e flores desta planta isolaram no mesmo, além de flavonoides, ácidos do grupo do ácido clorogênico, carotenóides, cucurbitacinas, proteínas, aminoácidos, enxofre, ferro, manganês e ácido fosfórico (16). Dessa forma, é possível que o prolongamento do TAP possa ser influenciado pelos flavonoides presentes no óleo essencial desta planta.

Outros estudos devem ser realizados, com um número maior de amostras, para uma melhor investigação acerca da atividade anticoagulante desta planta, o que neste estudo fora inviável devido ao baixo rendimento do OETM.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, foi possível observar, a partir dos resultados dos testes in vivo, que *T. majus* influenciou somente a via intrínseca da coagulação, no grupo de animais tratado com o EHTM. Grupo no qual também foi possível avaliar a significativa influência sobre a função plaquetária. O grupo em que administrou o EATM apresentou interferência na função plaquetária, porém não tão satisfatória quando comparado ao grupo tratado com Varfarina. No ensaio in vitro, foi possível observar a influência na via extrínseca da coagulação, nos grupos testados com EHTM e OHTM na proporção 1:1. Estudos mais aprofundados acerca da atividade anticoagulante desta planta, utilizando tanto o óleo essencial bem como o extrato aquoso e hidroetanólico devem ser realizados, principalmente in vivo, já que desta forma é possível avaliar os efeitos secundários do vegetal no metabolismo animal.

Ana Paula Ostrowski, Sérgio Alexandre Valentini, Mariana Felgueira Pavanelli..

*Endereço para correspondência: Faculdade Integrado de Campo Mourão. Rodovia BR 158, KM 207
Campo Mourão - PR
87300-970
E-mail: pavanelli.mari@gmail.com*

*Recebido em 05/07/2013
Revisado em 27/02/2014
Aceito em 31/07/2014*

REFERÊNCIAS

(1) FRANCO, F. R. Fisiologia da Coagulação, Anticoagulação e Fibrinólise. **Revista Medicina.** v. 34, p. 229-237, jul./dez. 2001.

(2) HIRSH, J.; O'DONNELL, M.; EIKELBOOM, J.W. Beyond unfractionated

heparin and warfarin: current and future advances. **Circulation.** v.116, p. 552-60, 2007.

(3) YOSHIDA, R. A.; YOSHIDA, W. B.; ROLLO, H. A. Novos anticoagulantes para a profilaxia do tromboembolismo venoso em cirurgias ortopédicas de grande porte. **Jornal**



- Vascular Brasileiro.** v. 10, n. 2, p. 145-153, 2011.
- (4) CARVALHO, A. C. B.; et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.
- (5) RUIZ, A. L. T. G.; et al. Farmacologia e Toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 18, n. 2, p. 295-300, 2008.
- (6) TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Revista Texto e Contexto Enfermagem.** v. 15, n. 4, p. 115-121, 2006.
- (7) SALVADOR, F. C.; et al. Análise microbiológica e de impurezas encontradas na *Pimpinella anisum L.*, comercializadas em lojas de produtos naturais de Apucarana – PR e região. **Revista Saúde e Pesquisa.** v. 4, n. 2, p. 140-146, 2011.
- (8) LOURENÇO, E. L. B.; et al. Screening for *in vivo* (anti)estrogenic and (anti)androgenic activities of *Tropaeolum majus* L. and its effect on uterine contractility. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 141, p. 418-423, 2012.
- (9) World Health Organization-WHO, 2008. Ficha n. 134. Traditional medicine. Publicado em Dezembro, 2008. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/index.html>>. Acesso em: 06 de Maio de 2013.
- (10) GOMES, C. **Toxicidade subcrônica (28 dias) de *Tropaeolum majus* L. em ratos.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia). 2012. 73f. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- (11) GASPAROTTO JÚNIOR, A.; et al. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats. **Journal of Ethnopharmacology.** v. 122, p. 517-522, 2009.
- (12) LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. **Instituto Plantarum**, 2002.
- (13) ZANETTI, G. D.; et al. Toxicidade Aguda e Atividade Antibacteriana dos Extratos de *Tropaeolum majus* L. **Acta Farmacéutica Bonaerense.** v. 22, n. 2, p. 159-162, 2003.
- (14) SANTO, A. P. E.; et al. Efeito Anticoagulante *In Vitro* do Extrato Hidroetanólico de Folhas e Flores Édulas de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) sobre o Plasma Humano. **Latin American Journal of Pharmacy.** v. 26, n. 5, p. 732-736, 2007.
- (15) MEDEIROS, J. M. R. de; et al. Antithrombin activity of medicinal plants of the Azores. **Journal of Ethnopharmacology,** v. 72, n. 1-2, p. 157-165, 2000.
- (16) BUTNARIU, M.; BOSTAN, C. Antimicrobial and anti-inflammatory activities of the volatile oil compounds from *Tropaeolum majus* L. (Nasturtium). **African Journal of Biotechnology.** v. 10, n. 31, p. 5900-5909, 2011.
- (17) BLOEM, E.; et al. Influence of *Tropaeolum majus* supplements on growth and antimicrobial capacity of glucotropaeolin in piglets. **Landbauforschung Volkenrode,** v.58, n.3, p.203-210, 2008.
- (18) LOURENÇO, E. L. B.; et al A. Atividade de *Tropaeolum majus* L. sobre a mobilização e migração leucocitária em modelo de bolsão inflamatório. **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR,** Umuarama, v. 15, n. 3, p. 243-256, 2011.
- (19) GASPAROTTO JÚNIOR, A. **Avaliação fitoquímica e farmacológica dos efeitos cardiovasculares e renais de *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae) em ratos.** 2010. 140f. Tese (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

- (20) ARAUJO, C. E. P.; et al. Análise Preliminar da Atividade Antiulcerogênica do Extrato Hidroalcoólico de *Solanum cernuum* Vell. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v. 21, n. 4, p. 283-286, 2002.
- (21) ARANTES, A. D. Efeitos da Varfarina durante o desenvolvimento fetal de ratos da linhagem Wistar. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**, 18., 2010, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: USP, 2010. Disponível em: <
<https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=1250&numeroEdicao=18>>. Acesso em: 01 de junho de 2013.
- (22) MARTINICHEN, J. C. **Propriedades anticoagulantes e antitrombóticas de polissacarídeos quimicamente sulfatados de líquens**. 2005. 187f. Tese (Doutorado em Ciências – Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2005.
- (23) GUGLIELMONE, H. A.; et al. Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavonoids from *Flaverina bidentis*. **Thrombosis Research**, v, 105, p. 183-188, 2002.
- (24) TIETZ, N. W.; et al. **Fundamentos de química clínica**. 6ªed. Rio de Janeiro: Ed: Elsevier, 2008.
- (25) GRIFFITHS, D.W.; et al. Identification of glucosinolates on the leaf surface of plants from the Cruciferae and other closely related species. **Phytochemistry**. v. 57, p. 693-700, 2001.