

## AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PRODUZIDOS POR *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA* D.C. E *BACCHARIS UNCINELLA* D.C. (ASTERACEAE) SOBRE A ATIVIDADE HIALURONIDASE

Eli Danieli Marchesan\*  
Regina Ferronato\*  
Franciela Bednarski\*\*  
Severino Matias de Alencar\*\*\*  
Sideney Becker Onofre\*\*\*\*

MARCHESAN, E. D.; FERRONATTO, R.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. Ação dos óleos essenciais produzidos por *baccharis dracunculifolia* D.C. e *baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae) sobre a atividade hialuronidase. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 63-66, mai./ago. 2006.

**RESUMO:** A hialuronidase é uma enzima que tem a capacidade de hidrolisar o ácido hialurônico que se localiza no interstício celular. Esse ácido tem a propriedade de manter as células aderidas. Por ação da hialuronidase, esse polímero é transformado em pequenos fragmentos, diminuindo sua viscosidade, facilitando a difusão dos componentes antigênicos para o interior das células. Estudos com o gênero *Baccharis* relatam propriedades capazes de inibir a ação da hialuronidase por extratos e óleos essenciais produzidos por espécies desse gênero. Buscando avaliar a atividade antiinflamatória de óleos essenciais produzidos por *B. uncinella* e *B. dracunculifolia* é que este trabalho foi desenvolvido. A inibição da atividade de hialuronidase foi determinada conforme metodologia descrita por Reissing; Strominger e Leloir, (1955), Aronson e Davidson (1967) e Kuppusamy; Khoo e Das (1990). Os resultados obtidos mostraram que a atividade enzimática foi inibida 77,86% na presença de 50µL do óleo de *B. dracunculifolia* e de 74,40% para o óleo de *B. uncinella*. Com esses resultados podemos verificar a capacidade dos dois óleos em neutralizar a ação da hialuronidase celular, comprovando assim, que os dois óleos estudados possuem atividade antiinflamatória.

**PALAVRAS-CHAVE:** Óleo essencial; Hialuronidase; *Baccharis* spp.

### THE EFFECTS OF THE ESSENTIAL OILS PRODUCED BY *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA* D.C. AND *BACCHARIS UNCINELLA* D.C. (ASTERACEAE) ABOUT THE HIALURONIDASE ACTIVITY

MARCHESAN, E. D.; FERRONATTO, R.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. The effects of the essential oils produced by *baccharis dracunculifolia* D.C. and *baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae) about the hyaluronidase activity. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 63-67, mai./ago., 2006.

**ABSTRACT:** The hyaluronidase is an enzyme that has the capacity of hydrolyzing the hyaluronic acid located in the cellular interstice. This acid has the property of maintaining the cells adhered. Because of the hyaluronidase, this polymer is transformed into small fragments, decreasing its viscosity, enabling the diffusion of the antigenic components inside the cells. Studies with the *Baccharis* gender present properties which are capable of inhibiting the hyaluronidase effects by extracts and essential oils produced by species of this gender. This paper was developed in order to evaluate the anti-inflammatory activity of the essential oils produced by *B. uncinella* and *B. dracunculifolia*. The inhibition of the hyaluronidase activity was determined according to the methodology described by Reissing; Strominger and Leloir (1955), Aronson and Davidson (1967) and Kuppusamy; Khoo and Das (1990). The results showed that the enzymatic activity was 77,86% inhibited in the presence of 50µL *B. dracunculifolia* oil and 74,40% for the *B. uncinella* oil. through these results we verified the capacity neutralizing the cellular hyaluronidase activity of both oils, thus proving that the studied oils have anti-inflammatory activity.

**KEY WORDS:** Essential oils; Hyaluronidase; *Baccharis* spp.

#### Introdução

A hialuronidase é uma enzima que tem a capacidade de hidrolisar o ácido hialurônico, um polímero viscoso, que geralmente localiza-se no interstício celular, cuja estrutura

molecular é formada de ligações repetidas de ácido β-D-glicurônico e N-acetil-glicosamina (Figura 1) (FRASER; LAURENT, 1989; HELDIN; LAURENT; HELDIN, 1989; ASPLUND et al., 1998; AL-HAJJ et al., 2003). O ácido hialurônico tem a propriedade de manter as células aderidas

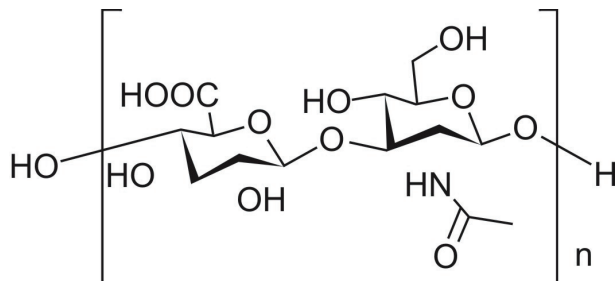
\*Bolsistas PIBIC/UNIPAR/CNPq. Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR.

\*\*Bolsista PIBIC/UNIPAR/CNPq. Acadêmicas do Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR.

\*\*\*Eng. Agrônomo, Doutor em Ciências de Alimentos, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP, Piracicaba - SP.

\*\*\*\*Biólogo, Doutor em Processos Biotecnológicos, Professor Titular de Microbiologia da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR e da União de Ensino Superior do Sudoeste do Paraná - UNISEP - Dois Vizinhos - PR. Endereço para correspondência: Sideney Becker Onofre, Av. Júlio Assis Cavalheiro, 2000, CX Postal 255 - 85601-000 - Francisco Beltrão - PR.

umas às outras. Por ação da hialuronidase, o polímero é transformado em pequenos fragmentos, diminuindo significativamente sua viscosidade e facilitando a proliferação celular entre os tecidos, levando assim a uma conseqüente degradação da matriz extracelular (MEC) (MADIGAN; MARTINKO; PARKER, 1997; BAZEL; ALHADEFF, 1999).



**Figura 1 - Estrutura química do ácido hialurônico.**

A degradação da MEC, se constitui em um evento essencial em muitos processos fisiológicos, como durante o desenvolvimento embrionário, crescimento e reparo dos tecidos. Por outro lado, sua excessiva degradação pode acarretar no desenvolvimento de várias condições patológicas, dentre as quais cita-se artrite reumatóide, osteoartrite e doenças autoimunes (BORNSTEIN; SAGE, 2002). Tal fato também está diretamente relacionado ao processo de invasão e metástase tumoral, o qual se constitui no principal fator prognóstico dos pacientes portadores de câncer (SOTTILE, 2004).

Todas as células do organismo estão embebidas em um meio altamente viscoso de substância fundamental que fisicamente restringe a tendência inerente das células proliferarem. A proliferação é iniciada pela liberação de hialuronidase pelas células, a qual catalisa a hidrólise dos glicosaminoglicanos (GAGs) no meio imediato e permite liberdade para as células se dividirem e migrarem dentro dos limites da ação enzimática. A proliferação é mantida na medida que a hialuronidase está sendo liberada e a proliferação pára quando cessa a produção de hialuronidase ou quando a hialuronidase é inibida e o meio reverte a sua situação normal de alta viscosidade. Cameron e Rotman (1972), lançaram a seguinte hipótese: todas as formas de proliferação celular dependem fundamentalmente da interação entre a célula e o seu meio imediato. Uma hipótese é que a célula se torne cancerosa por produzir hialuronidase continuamente, o que permitiria a sua divisão “in perpetuo”. Estas células renegadas são autônomas somente porque elas possuem esta habilidade específica, a habilidade de se isolarem permanentemente do “contato” e de todos os “controles” habituais que governam a organização do tecido, incluindo a restrição física de crescimento (BECHERER; BLOBEL, 2003).

Supondo que a proliferação celular depende da despolimerização da substância fundamental pela hialuronidase celular, temos dois métodos para exercer algum controle terapêutico sobre o câncer e outras doenças com proliferação celular excessiva: a primeira é a de aumentar a resistência da substância fundamental, isto é,

fortalecer ou reforçar as moléculas de glicosaminoglicanos e, no segundo caso, a de neutralizar a hialuronidase celular, diminuindo a sua produção ou inibindo a sua ação (WEST et al., 1985; ROITT; BROSTOFF; MALE, 1994; ROBBINS, 1996; STITES; TERR; PARSLOW, 1997; ROPPONEN et al., 1998; KOSAKI; WATANABE; YAMAGUCHI, 1999).

Com um enfoque na possibilidade da hialuronidase ser inibida por drogas, métodos imunológicos ou pela utilização de inibidores naturais é que muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos (KAKEGAWA; MATSUMOTO; SATOH, 1988; KUPPUSAMY, KHOO; DAS, 1990; KUPPUSAMY; DAS, 1991; FACINO et al., 1995; JEONG et al., 1999; JEONG et al., 2000; SALMEN, 2003). Nesses estudos, devemos destacar a avaliação de compostos fenólicos, flavonóides e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas com ação biológica no controle da atividade hialuronidase.

Devido à importância do ácido hialurônico e da hialuronidase em aplicações clínicas e na busca de potentes inibidores de origem natural e em especial de plantas, é que o estudo do gênero *Baccharis* se evidencia. Dentro desta família destacamos as espécies *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. conhecidas popularmente como alecrim-do-campo ou vassourinha, encontrada em grande quantidade em pastagens, sendo considerada uma planta invasora, adaptando-se a lugares de terra fraca e solo ácido, distribuída em todas as regiões das Américas do Norte, Central e do Sul.

Essas duas espécies passaram a ter interesse mundial, pois fornecem material às abelhas na produção da própolis verde, própolis essa que apresenta inúmeras propriedades terapêuticas e biológicas, destacando, atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e antiinflamatória, prevenindo o aparecimento de doenças (HAMMERSCHMIDT; PRATT, 1978; PARK et al., 1995; PARK et al., 1998; KOO; PARK, 1997; MIYATAKA et al., 1997).

Nesse contexto é que o objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antiinflamatória dos óleos voláteis produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae) sobre a atividade hialuronidase.

## Material e Método

### Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos utilizados neste trabalho foram obtidos pelo processo de hidrodestilação (arraste a vapor) utilizando para isso um extrator do tipo Clevenger modificado. As espécies em estudo são a *Baccharis dracunculifolia* D.C. e a *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae), coletadas na região Sudoeste do Estado do Paraná no período de abril a setembro de 2005.

### Inibição da atividade da hialuronidase

A inibição da atividade de hialuronidase foi determinada conforme metodologia descrita por Reissing; Strominger e Leloir (1955), Aronson e Davidson (1967) e Kuppusamy, Khoo e Das (1990). A mistura de reação consistiu de 50µL, 40µL, 30µL, 20µL, 10µL, 5µL e 1µL dos respectivos óleos obtidos, 0,5mL do sal de potássio do ácido hialurônico em tampão acetato 0,1M, pH 3,6 contendo

0,15M de cloreto de sódio (NaCl) e 50 µL (350 unidades) da enzima hialuronidase (Tipo IV-S: obtido de testículo bovino, Sigma Co), dissolvida no mesmo tampão; esta mistura de reação foi incubada a 37°C por 40 minutos.

Após a incubação, 0,1mL de tetraborato de potássio 0,8M foi adicionado a mistura de reação e novamente incubada em banho de ebulição por 3 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,3mL de *o*-dimetilaminobenzaldeído e a mistura foi incubada novamente a 37°C por 20 minutos. Finalmente, a absorbância da mistura foi medida em espectrofotômetro a 585 nm usando DMSO (dimetil sulfoxido) como controle.

### Análise Estatística

As análises de variância foram realizadas segundo normas da ANOVA. As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey. Todas as atividades foram realizadas em triplicata.

### Resultados e Discussão

O efeito dos óleos essenciais sobre a atividade hialuronidase foi verificado e os resultados estão apresentados na Tabela 1 e nas Figuras 2 e 3. Foi constatado que o óleo essencial produzido pela *B. dracunculifolia* apresentou maior inibição da atividade enzimática quando em comparação com o óleo essencial produzido pela *B. uncinella*. Essa atividade inibitória foi decrescendo a medida que os volumes dos óleos foram diminuindo.

**Tabela 1 - Atividade hialuronidase em presença dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella*.**

Volume do óleo (µL)	<i>B. dracunculifolia</i>	<i>B. uncinella</i>
50	22,14±1,24 <sup>1</sup> aA <sup>2</sup>	25,60±2,04 aA <sup>2</sup>
40	23,05±2,43 aA	24,34±3,12 aA
30	31,22±3,23 abA	38,21±4,21 abA
20	41,25±4,35 bB	55,45±5,34 bB
10	60,05±6,54 bcB	75,12±6,56 cdB
5	90,06±7,32 cC	94,3±8,89 dC
1	100,00±00 cC	100,00±00 dC

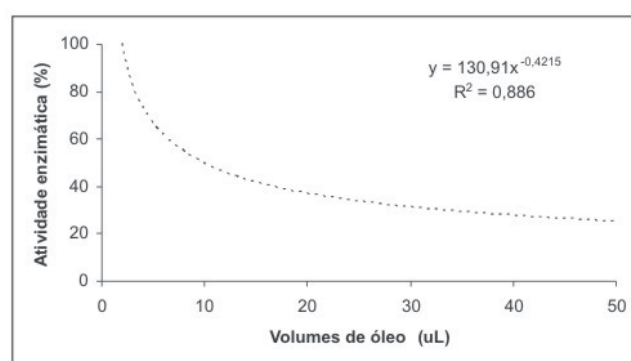
<sup>1</sup>Valores determinados em porcentagem (%).

<sup>2</sup>Médias seguidas da mesma letra: minúsculas na vertical e maiúscula na horizontal, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Observando os resultados apresentados na Tabela 1, verificamos que o óleo produzido por *B. dracunculifolia* inibiu a atividade enzimática em 77,86%, na presença de 50µL do referido óleo, isto é a enzima apresentou uma atividade de 22,14±1,24%. Podemos verificar que a atividade inibitória do óleo foi diminuindo até que a atividade enzimática se manteve em 100% na presença de 1µL do óleo de *B. dracunculifolia*. Já para o óleo produzido por *B. uncinella* foi observado que a inibição enzimática foi menor, pois com 50µL a atividade enzimática foi inibida em 74,40%, isto é, a enzima apresentou uma atividade de apenas 25,60±2,04% sob a ação de 50µL, e chegando a sua atividade máxima, isto é, 100% da sua atividade enzimática na presença de 1µL. Os resultados obtidos com 50µL dos óleos de ambas as

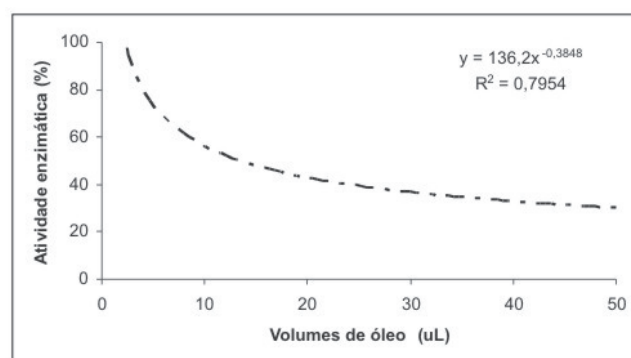
plantas, não se mostraram significantes quando comparados estatisticamente ao nível de 5%. Esse mesmo comportamento foi verificado com o volume de 40µL.

Os resultados obtidos com esse trabalho vêm contribuir com outros resultados obtidos com outras espécies do gênero *Baccharis*, destacando as espécies *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. dracunculifolia*, *B. grisebachii* e *B. tricuneata* que foram avaliadas quanto a sua composição química e suas atividades biológicas. Nesses estudos, os compostos que mais se destacaram foram os flavonóides, clerodanos e labdanos, embora também se tenha observado com certa frequência a presença de kauranos, triterpenos, germacreno, ácidos cumáricos, tricotecenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides. Dentre as atividades biológicas destacam-se os efeitos alelopáticos, antimicrobianos, citotóxicos e antiinflamatórios (AVANCINI; WIEST; MUNSTOCK, 2000; RANGEL et al., 2001; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI., 2005).



**Figura 2 - Inibição da atividade de hialuronidase pelo óleo essencial produzido por *Baccharis dracunculifolia*.**

Avaliando a atividade antiinflamatória de frações aquosas e etanólicas de *B. trimera*, Castro e Honório (2005), mostraram a ação antiinflamatória aguda do extrato aquoso com o modelo de edema de pata induzida por carragenina. Os resultados obtidos se mostraram significativos a partir de doses de 40 mg/kg mostrando uma tendência de reduzir o edema.



**Figura 3 - Inibição da atividade de hialuronidase pelo óleo essencial produzido por *Baccharis uncinella*.**

Outro trabalho que veio contribuir com a significância dos resultados aqui obtido, foi o realizado por Menezes (2005), que avaliou a atividade antiinflamatória de extrato aquoso de *B. dracunculifolia* utilizando o modelo de pleurisia induzida por zimozan em camundongos. Observou-

se que o tratamento 5 minutos antes da inoculação de zimosan, foi capaz de inibir o acúmulo de linfócitos totais (de  $19,64 \pm 1,58$  para  $5,24 \pm 1,49$ ), e o acúmulo específico de mononucleares (de  $1,663 \pm 0,32$  para  $0,61 \pm 0,06$ ), neutrófilos (de  $16,96 \pm 1,48$  para  $4,62 \pm 1,51$ ) e eosinófilos (de  $1,01 \pm 0,37$  para  $0,016 \pm 0,016$ ), mas não foi capaz de inibir o extravasamento de azul de Evans. Já o tratamento de 1h antes do inóculo de zimosan foi capaz de inibir somente o acúmulo de leucócitos totais (de  $20,04 \pm 3,91$  para  $6,58 \pm 0,78$ ) e o acúmulo específico de neutrófilos (de  $17,66 \pm 3,27$  para  $5,679 \pm 0,71$ ), não havendo inibição no acúmulo de mononucleares, eosinófilos e no extravasamento de azul de Evans. Estes resultados indicam que o extrato aquoso bruto de *B. dracunculifolia* possui atividade antiinflamatória e que é mais potente quando, concomitantemente, administrado ao estímulo da inflamação.

Trabalhos que destacam a atividade antiinflamatória de plantas do gênero *Baccharis* e que vem contribuir com os resultados obtidos são os realizados utilizando compostos de *B. pedunculata* por Rahalison et al., 1995 (apud VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005); com *B. sarothroides* e com *B. trimera* por René et al., 1996 (Apud VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

### Conclusão

Verificamos através dos resultados obtidos nas condições deste estudo que os óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D. C. e *Baccharis uncinella* D. C. (Asteraceae), possuem a capacidade de inibir a atividade enzimática da hialuronidase o que se sugere que esse fato está intimamente relacionado com a atividade biológica de seus componentes.

### Referências

AL-HAJJ, M. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 100, n. 3, p. 3983-3988, 2003.

ARONSON, N. N.; DAVIDSON, E. A. Lysosomal hyaluronidase from rat liver. *J. Biol. Chem.* v. 242, n. 2, p. 437-440, 1967.

ASPLUND T. et al. Characterization of hyaluronan synthase from a human gliomas cell line. *Biochim Biophys Acta*, v. 1380, n. 2, p. 377-388, 1998.

AVANCINI, C. A. M.; WIEST, J. M.; MUNDSTOCK, E. Bacteriostatic and bactericidal activity of the *Baccharis trimera* (Less.) D. C. Compositae decocto, as disinfectant or antiseptic. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* v. 52, n. 3, p. 230-234, 2000.

BAZEL, S.; ALHADEFF, J. A. Characterization of purified cathepsin D from malignant human breast tissue. *Int. J. Oncol.* v.14, n. 2, p 315-319, 1999.

BECHERER, J. D.; BLOBEL, C. P. Biochemical properties and functions of membrane-anchored metalloprotease-distintegrin proteins (ADAMs). *Curr. Top. Dev. Biol.* v. 54, n. 4, p. 101-123, 2003.

BORNSTEIN, P.; SAGE, E. H. Matricellular proteins: extracellular modulators of cell function. *Current Opin. Cell. Biol.* v. 14, n. 3, p. 608-616, 2002.

CAMERON, E.; PAULING, L. Ascorbic Acid and the Glycosaminoglycans. An Orthomolecular Approach to Cancer and Other Diseases. *Oncology*, v. 27, n. 1, p. 181-192, 1973.

CAMERON, E.; ROTMAN, D. *Ascorbic acid, cell proliferation, and cancer*. São Paulo: Lancet, 1972. 542 p.

CASTRO, F. L.; HONÓRIO, T. S. Avaliação de atividade antiinflamatória neurogênica de extrato aquoso de *Baccharis trimera*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2005, Curitiba. *Anais...* Curitiba: UFPR, 2005. p.36.

FACINO, R. et al. Anti-Elastase and Anti-Hyaluronidase Activities of Saponins and Sapogenin from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: Factors Contributing to their Efficacy in the Treatment of Venous Insufficiency. *Arch. Pharm.* v. 328, n. 2, p. 720-724, 1995.

FRASER, J. R.; LAURENT, T. C. Turnover and metabolism of hyaluronan. *Ciba Found Symp.* v. 143, n. 1, p. 41-53, 1989.

HAMMERSCHMIDT, P. A.; PRATT, D. E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. Food Sci.* v. 43, n. 2, p. 556-559, 1978.

HELDIN, P.; LAURENT, T. C.; HELDIN, C. H. Effect of growth factors on hyaluronan synthesis in cultured human fibroblasts. *Biochem. J.* v. 258, n. 3, p. 919-922, 1989.

JEONG, S. et al. Hyaluronidase Inhibitory Active 6HDibenzo[b, d]Pyran-6-Ones from the Feces of *Trogopterus xanthipes*. *Planta Med.* v. 66, n. 2, p. 76-77, 2000.

JEONG, S. J. et al. Norlignans with Hyaluronidase Inhibitory Activity from *Anemarrhena asphodeloides*. *Planta Med.* v. 65, n. 2, p. 367-368, 1999.

KAKEGAWA, H.; MATSUMOTO, H.; SATOH, T. Inhibitory effects of hydrangenol derivatives on the activation of hyaluronidase and their antiallergic activities. *Planta Med.* v. 54, n. 3, p. 385-389, 1988.

KOO, M. H.; PARK, Y. K. Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same region. *Biotech. Biochem.* v. 61, n. 2, p. 367-369, 1997.

KOSAKI, R.; WATANABE, K.; YAMAGUCHI, Y. Overproduction of hyaluronan by expression of the hyaluronan synthase Has2 enhances anchorage-independent growth and tumorigenicity. *Cancer Res.* v. 59, n. 1, p. 1141-1145, 1999.

KUPPUSAMY, U. R.; DAS, N. P. Inhibitory effects of flavonoids on several venom hyaluronidases. *Experientia*, v. 47, n. 2, p. 1196-1200, 1991.

KUPPUSAMY, U.; KHOO, H.; DAS, N. Structure-activity studies of flavonoids as inhibitors of hyaluronidase. *Biochem Pharmacol.* v. 40, n. 3, p. 397-401, 1990.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. *Brock, biology of microorganisms*, 8<sup>th</sup> Ed. Rio de Janeiro: Prentice Hall do Brasil. 1997. 521 p.

MIYATAKA, H. et al. Evaluation of propolis. In: Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biol. Pharm. Bull.* v. 20, n. 2, p. 496-501, 1997.

PARK, Y. K. et al. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Cur. Microbiol.* v. 34, n. 3, p. 24-28, 1998.

\_\_\_\_\_. Estudo de alguns componentes da própolis coletada por *Apis mellifera* no Brasil. *Arq. Biol. Tecnol.* v. 38, n. 3, p. 1253-1259, 1995.

RANGEL, D. et al. Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y acuoso de *Baccharis nitida*. *Revista de la Facultad de Farmacia*, v. 42, n.1, p. 35-46, 2001.

REISSING, J. L.; STROMINGER, J. L.; LELOIR, L. F. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino sugars. *J. Biol. Chem.* v. 217, n. 2, p. 959-966, 1955.

ROBBINS, R. *Patologia estrutural e funcional*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. 412 p.

ROITT, I. M.; BROSTOFF, J.; MALE, D. *Imunologia*. 3. ed. São Paulo: Manole. 1994. 485 p.

RÖPPONEN, K. et al. Tumor cell-associated hyaluronan as an unfavorable prognostic factor in colorectal cancer. *Cancer Res.* v. 58, n. 2, p. 342-347, 1998.

SALMEN, S. *Inhibitors of bacterial and mammalian hyaluronidases: synthesis and structure-activity relationships*. University of Regensburg: Regensburg. 2003. 356 p.

SOTTILE, J. Regulation of angiogenesis by extracellular matrix. *Bioch et Biophys Acta*. v. 1654, n. 4, p. 13-22, 2004.

STITES, D. P.; TERR, A. I.; PARSLAW, T. G. *Medical immunology*. 9<sup>th</sup> Ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange. 1997. 560 p.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. O gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. *Química Nova*, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.

WEST, D. C. et al. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science*, v. 228, n. 2, p. 1324-1326, 1985.

Recebido em: 14/12/05  
Aceito em: 13/12/06

Received on: 14/12/05  
Accepted on: 13/12/06