



FACULDADE LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

FRANCISCA JANIELLE BARROS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) E SEU EFEITO OSMÓTICO E MORFOLÓGICO NA MEMBRANA DE ERITRÓCITOS

JUAZEIRO DO NORTE- CE
2013

FRANCISCA JANIELLE BARROS

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) E SEU EFEITO OSMÓTICO E MORFOLÓGICO NA MEMBRANA DE ERITRÓCITOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Coordenação do curso de graduação em
Biomedicina da Faculdade Leão Sampaio –
FALS como requisito para a obtenção do grau
de bacharel em Biomedicina

Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes

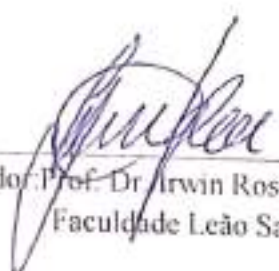
JUAZEIRO DO NORTE-CE
2013

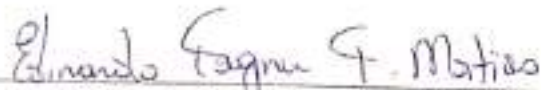
FRANCISCA JANIELLE BARROS

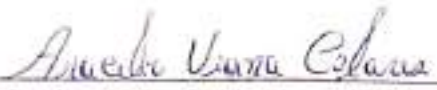
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) E SEU EFEITO OSMÓTICO E MORFOLÓGICO NA MEMBRANA DE ERITRÓCITOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de graduação em Biomedicina da Faculdade Leão Sampaio – FALS como requisito para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina

Data da aprovação 12 / 11 / 13


Orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes
Faculdade Leão Sampaio


Membro 1: Prof. Me. Ednardo Fagner Ferreira Matias
Faculdade Leão Sampaio


Membro 2: Prof. Me. Aracélio Viana Colares
Faculdade Leão Sampaio

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) E SEU EFEITO OSMÓTICO E MORFOLÓGICO NA MEMBRANA DE ERITRÓCITOS

Francisca Janielle Barros¹, Irwin Rose Alencar Menezes²

RESUMO

O uso de produtos naturais pelos povos, para tratamento e cura de patologias, é praticado desde a antiguidade, sendo esse costume, por isso, considerado como fonte terapêutica. *Cinnamomum zeylanicum*, popularmente conhecido como canela, é uma erva utilizada na medicina popular e destaca-se por possuir, em seu óleo essencial, efeitos diversos. A partir do ensaio de fragilidade osmótica, é possível verificar a integridade da membrana dos eritrócitos, avaliando o efeito de drogas sintéticas ou naturais sobre sua membrana. Objetivou-se com esse trabalho, avaliar os efeitos *in vitro* de óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* na fragilidade osmótica e morfologia de hemácias, analisando assim a sua caracterização química, e a atividade citoprotetora frente a diferentes concentrações de Cloreto de sódio (NaCl). As amostras sanguíneas foram incubadas com o óleo de *C. zeylanicum* e lidas em espectrofotometria nos tempos de 1h e 2h, em diferentes concentrações salina, foram confeccionados esfregaços sanguíneos para avaliação da morfologia em microscopia. Na presença do óleo, os dados obtidos não indicaram uma alteração significativa de hemólise e de morfologia e não revelou ação citoprotetora para membrana dos eritrócitos. Em conclusão, o óleo essencial não demonstrou atividade hemolítica nem protetora para hemácias.

Palavras-chave: *Cinnamomum zeylanicum*. Eritrócitos. Fragilidade osmótica. Morfologia.

CHEMICAL CHARACTERIZATION OF ESSENTIAL OIL *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae) AND THEIR OSMOTIC EFFECT AND MORPHOLOGICAL MEMBRANE OF ERYTHROCYTES

ABSTRACT

The use of natural products by people, for the treatment and cure of diseases, has been practiced since ancient times, this custom, therefore, is considered a therapeutic source. *Cinnamomum zeylanicum*, popularly known as cinnamon, is an herb used in folk medicine and is characterized by having in its essential oil, various effects. From the osmotic fragility test, you can verify the integrity of the erythrocyte membrane, evaluating the effect of natural or synthetic drugs on their membrane. The purpose of this study was to evaluate the *in vitro* effects of essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* in osmotic fragility and morphology of RBCs, thus analyzing its chemical characterization and cytoprotective activity against

different concentrations of sodium chloride (NaCl). The blood samples were incubated with the oil of *C. zeylanicum* and read spectrophotometrically in the spaces of 1h and 2h at different salt concentrations, blood smears were prepared for microscopy morphology evaluation. In the presence of oil, the data indicated no significant change of hemolysis and morphology and did not show cytoprotective action on the erythrocyte membrane. In conclusion, the essential oil showed no hemolytic activity or protective to erythrocytes.

Keywords: *Cinnamomum zeylanicum*. Erythrocytes. Osmotic fragility. Morphology.

¹ Discente do curso de Biomedicina

² Docente do curso de Biomedicina

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para tratar e curar enfermidades é uma prática antiga, onde comunidades e grupos étnicos utilizam dos seus conhecimentos como único meio de terapias (MACIEL et al., 2001). Desta forma, considera-se uma das primeiras fontes terapêuticas usadas pelos povos (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006), sendo o consumo no mundo representado por 30% dos produtos utilizados para fins medicamentosos (DI STASI, 2007). As plantas são umas das principais formas de obtenção de fármacos, por ser uma importante fonte de compostos biologicamente ativos (LIMA et al., 2007), do seu manejo é possível a obtenção de substâncias empregadas no controle de patologias (LIMA, 2006).

A espécie *Cinnamomum zeylanicum* popularmente conhecida como canela, é uma espécie pertencente a família Lauraceae, utilizada na medicina popular. A família destaca-se por sua importância econômica, tendo algumas de suas espécies usadas na fabricação de produtos (MARQUES, 2001). O óleo de *C. zeylanicum* é utilizado por possuir efeitos diversos, dentre eles o efeito de anti-inflamatório, antipirético, antiespasmódico, carminativo, antibacteriano, antisséptico, larvicida, mio-relaxante, anti-hipertensivo, sedante e inseticida (GROSSMAN; ZITUNE; JANUÁRIO, 2005); e outros como analgésico, afrodisíaco, adstringente e hemostático (CARMO, 2008). O óleo obtido da casca tem como principal componente o aldeído cinâmico, do qual se relata atividades biológicas (FREIRE, 2008; FREIRE et al., 2011; ANDRADE et al., 2012) como ação fungicida, bactericida, prevenção de aglutinação plaquetária e na perfumaria (AZAMBUJA, 2009), caracterizado com um fenilpropanoide (ABRIFA, 2007).

Com o ensaio de fragilidade osmótica pode-se verificar a integridade da membrana dos glóbulos vermelhos (CINARA et al., 2006; SPENGLER et al., 2007), ponderando os efeitos de drogas sintéticas ou naturais (DIDELON et al., 2000).

Devido sua disponibilidade e acessibilidade os eritrócitos ou células vermelhas sanguíneas são utilizados em diversos estudos associados à constituição e comportamento da membrana (MARIGLIANO et al., 1999; MAZZANTI et al., 2002; GOUVÊA-E-SILVA, 2006; SRINIVASAN; KEMPAIAH, 2006; BATISTA et al., 2007; FIRMINO, 2007). A ação de forma direta da bomba de sódio e potássio parece controlar o volume de células vermelhas do sangue (RBC) de forma a conduzir a concentração de solutos intracelular, regendo assim a ação osmótica que pode levar a célula a inchar ou minguar (ALBERTS et al., 2002). Uma hemólise causada pela perturbação estrutural celular ou do seu citoesqueleto teve como causa o aumento do coeficiente de partição da membrana, a "curva de fragilidade osmótica" retrata as mudanças causadas nas células devido ao tratamento osmótico (CAVALCANTI et al., 2003; DIDELON et al., 2000).

Devido à vasta diversidade botânica e aos costumes naturais de cada população, os produtos naturais tem sido fonte de tratamento para diversas patologias, o que se fortalece devido ao nível socioeconômico e a falta de acesso ao sistema de saúde por parte de cada comunidade, fazendo-se desta forma necessário a investigação da ação de seu constituintes, validando cientificamente seu uso. Objetivou-se, portanto, identificar os constituintes químicos do óleo essencial de *C. zeylanicum*, avaliando o seu efeito *in vitro* na fragilidade osmótica e morfologia das hemácias e sua atividade citoprotetora frente a diferentes concentrações de Cloreto de sódio (NaCl).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Identificações do material vegetal e extração do óleo essencial

O material vegetal utilizado foram cascas de *C. zeylanicum* obtidas a partir de coletas residenciais na cidade de Juazeiro do Norte-CE, a identificação da espécie foi realizada pelo laboratório de botânica da Universidade Regional do Cariri- URCA. O óleo essencial foi obtido a partir da hidrodestilação, pelo método de arraste a vapor usando o aparelho de

Clevenger modificado (CRAVEIRO, 1981), o processo de destilação do óleo essencial foi executado no Laboratório de Bioquímica da Faculdade Leão Sampaio- FALS. Os constituintes do óleo foram identificados no Laboratório de Produtos Naturais - LPN da Universidade Regional do Cariri- URCA por espectrofotômetro, a análise dos constituintes químicos do óleo essencial de *C. zeylanicum* foi realizada usando o equipamento Shimadzu GC MS – QP2010 séries (GC/MS system). A identificação dos componentes individuais foi baseada nas suas fragmentações baseadas na biblioteca NIST 08 e por comparação com dados da literatura.

2.2 Sangue

O sangue utilizado nos testes foi fornecido pelos autores do trabalho que, como pré-requisito, possuíam seus eritogramas devidamente dentro dos valores de referência de normalidade, visando evitar falsos resultados. A amostra foi coletada por meio de punção venosa em tubos que continham como anticoagulante o citrato de sódio.

2.3 Procedimento experimental

2.3.1 Avaliação de citotoxicidade do óleo essencial

A avaliação da fragilidade osmótica das células vermelhas sanguíneas foi realizada com amostras de suspensão de hemácias previamente lavadas com solução salina e incubadas com óleo essencial diluído em Dimetil Sulfóxido (DMSO) á 1%, em seis concentrações (5µL/mL, 10µL/mL, 25µL/mL, 50µL/mL, 100µL/mL, 200µL/mL), onde foram incubados em banho-maria (37°C) nos tempos de 1 hora e 2 horas. Após o tempo determinado foram centrifugados (1.500rpm por 15 min.) e seus sobrenadantes foram isolados e lidos em espectrofotômetro de massa (540nm). Os controles foram água destilada e NaCl (0,9%). Após a centrifugação das amostras em diferentes concentrações foram retiradas aliquotas de cada

amostra que foram ressuspensas em 2mL de solução salina para confecções de esfregaços que foram corados (May- Grunwald- Giensa) e lidos em microscopia óptica (x100).

2.3.2 Avaliação da proteção do óleo frente a diferentes concentrações de NaCl

A avaliação protetora do óleo essencial foi realizada com amostras de suspensão de hemácias previamente lavadas com solução salina e incubadas com o óleo essencial diluído em DMSO (1%), em seis concentrações (5µL/mL, 10µL/mL, 25µL/mL, 50µL/mL, 100µL/mL, 200µL/mL). Para cada concentração foram realizados testes em sete concentrações de NaCl (0,12%, 0,24%, 0,36%, 0,48%, 0,60%, 0,72% e 0,90%) e incubados em banho-maria (37°C) nos tempo de 1 hora e 2 horas. . Após o tempo determinado foram centrifugados (1.500rpm por 15 min.) e seus sobrenadantes foram isolados e lidos em espectrofotômetro de massa (540nm). Os controles foram água destilada e NaCl (0,9%).

2.4 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada através do software Graph Pad Prism versão 3.0 do Windows. Os resultados foram analisados pelo programa Analise de Variância – ANOVA seguidamente pelo teste de Student Newman Keuls. As análises estatísticas foram representadas pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação do material vegetal foi realizada pela Dra Maria Arlene Pessoa da Silva e depositado no herbário Carriense Dárdano de Andrade-Lima com o numero de registro 26.2013. O rendimento obtido do óleo foi de 0,22%, a quantificação dos constituintes referentes à composição química do óleo essencial de *C. zeylanicum* obtidos por cromatografia gasosa (CG) estão representados na tabela 1. Assim como observado na tabela,

FREIRE et al (2011) verificou em sua caracterização que o principal constituinte da casca de *C. zeylanicum* é o cinamaldeído (87,7%).

Tabela 1: Principais componentes químicos (%) do óleo essência da casca de canela

Componentes	Tr(min) ^a	(%)
α -tujeno	3,16	0,88
<i>p</i> -cineol	4,14	3,92
α -terpineol	6,14	1,20
(E)-cinamato de vinila	6,56	0,26
(E)-cinamaldeído	7,35	87,99
acetato de cinamila	9,53	3,28
TOTAL		97,53

As substâncias, quando em contato com o organismo, agem inicialmente no sangue, provocando efeitos eritrocitários que podem ocasionar hipóxia tecidual, atenuando o efeito tóxico da substância podendo gerar problemas a saúde do indivíduo (BATISTA et al., 2006).

Alterações nas membranas de eritrócitos servem como medida de avaliação de sua estabilidade ou composição podendo ser uma forma de diagnóstico para diversas patologias e estudo significativo de células quando submetidas a alguns fatores. (MARIGLIANO et al., 1999; MAZZANTI et al., 2002; GOUVÊA; SILVA, 2006; SRINIVASAN; KEMPAIAH, 2006; BATISTA et al., 2007; FIRMINO, 2007).

A lise das células em relação a sua osmolaridade associa-se a fatores extrínsecos e intrínsecos, como a morfologia e tamanho da célula, área/volume, espécies e características ligadas à membrana (RODRIGUES; BATISTA; FONSECA; FERRIRA, 2011).

3.1 Avaliação da citotoxicidade do óleo essencial de *C. zeylanicum*

As leituras realizadas no espectrofotômetro avaliaram a fragilidade osmótica das células vermelhas. O contato do óleo com as hemácias e com solução salina a 0,9% demonstrou uma variação não significativa dos resultados, quanto relatados o controle de

100% de hemólise. Podem-se analisar os dados dos resultados na figura 1, onde é observado que houve uma variação quando comparados os tempos de 1h e 2h na concentração salina de 0,9%.

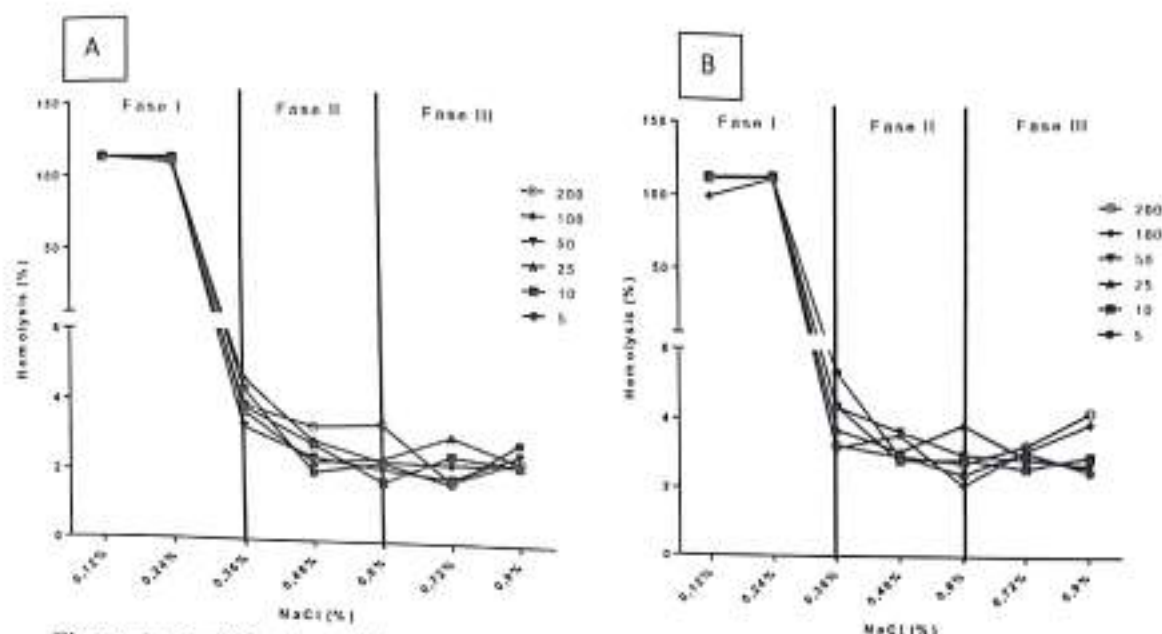


Figura 1: Fragilidade osmótica de amostras de sangue tratada com óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum*. As amostras de sangue foram incubadas com o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* ou com solução de cloreto de sódio (NaCl 0,9%), como controle. A percentagem de hemólise foi calculada e "curvas de fragilidade" foram tiradas traçando a percentagem de hemólise (% hemólise) para cada concentração de NaCl (em relação a 100% de tubos de hemólise - salina 0,12%) nos tempos de 1h (A) e 2h (B).

A presença de hemólise gerada pela exposição das hemácias a substância testada pode estar relacionada de forma direta com a sua citotoxicidade e pode ser usado como triagem para avaliação toxicológica *in vitro* (SCHLAR et al., 2007). Os resultados demonstraram que a substância em estudo não gerou uma hemólise significativa para a membrana celular dos eritrócitos, sendo que no tempo de 2h houve uma diferença maior entre os resultados do teste e do controle, no entanto, o óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* não demonstrou ação hemolítica sobre os eritrócitos.

Quanto à morfologia das hemácias, a partir dos esfregaços confeccionados pôde-se observar que os testes da primeira fase da pesquisa não acarretaram uma alteração morfológica na membrana das hemácias. Foram visualizados esfregaços das seis concentrações do óleo utilizados na primeira fase dos testes e não foi observado alterações significativas, no entanto, algumas hemácias obtiveram um aspecto maior, tornando-se

macrocíticas em concentrações maiores do óleo. As figuras 2 e 3 representam esfregaços dos controles e os testes da menor e maior concentração do óleo.

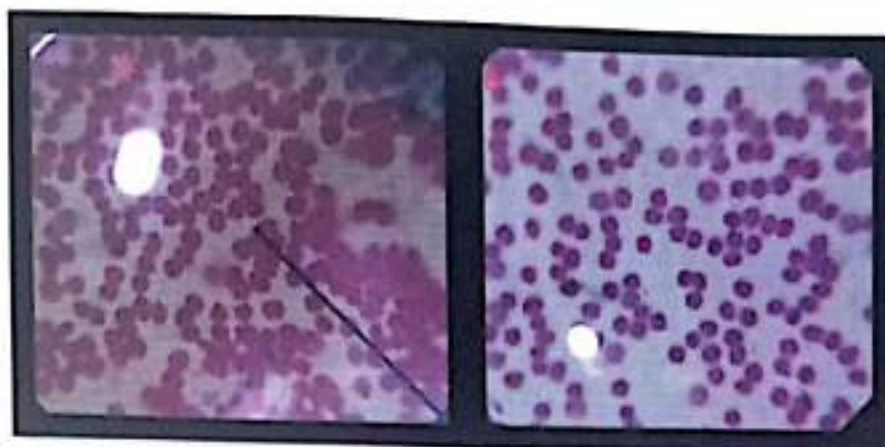


Figura 2. Esfregaços de hemácias corados. Em A, o controle negativo (Salina a 0,9% + DMSO) e em B, hemácias encubadas com o óleo de *Cinnamomum zeylanicum* (salina 0,9% + DMSO + óleo) na concentração de 5µL.

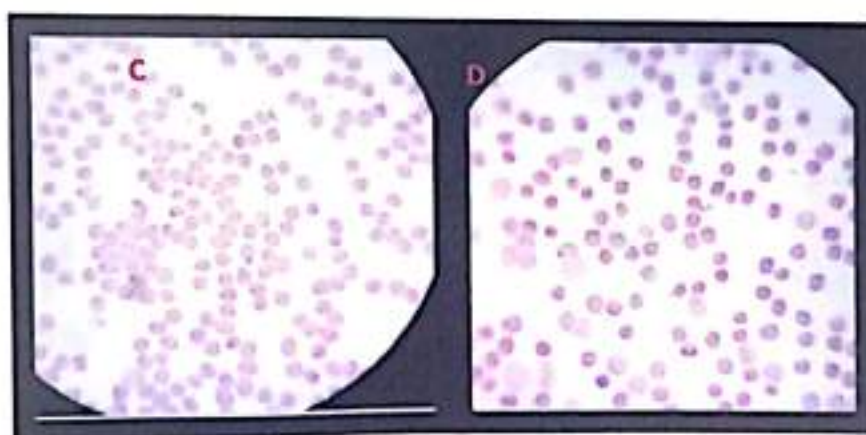


Figura 3. Esfregaços de hemácias corados. Em C, o controle negativo (salina a 0,9% + DMSO) e em D, hemácias encubadas com o óleo de *Cinnamomum zeylanicum* (salina 0,9% + DMSO + óleo) na concentração de 200µL.

Oliveira et al (2005) e Ammus e Ynis (1989) em seus trabalhos, relataram que algumas drogas tem a capacidade de alterar a forma e a fisiologia de hemácias. Como observado nas figuras 2 e 3, parte das hemácias sofreram uma discreta alteração morfológica, demonstrando que algumas aumentaram o tamanho em relação ao controle. Em sua pesquisa, Benarroz et al (2008) trabalhou com o extrato de *C. zeylanicum*, concluindo que o extrato não causou alteração de constituintes sanguíneos em marcação específica e não afetou a estrutura da membrana das hemácias. Ao trabalhar com o extrato de Buzhong Yi Qi Wan (BYQW),

Giani et al (2007) concluiu que o extrato pode afetar a membrana, diminuindo sua resistência osmótica, mas pode não alterar a forma das hemácias, levando a validar que o ensaio de fragilidade osmótica é mais sensível que a análise morfológica para avaliar os efeitos nos glóbulos vermelhos.

3.2 Avaliação da proteção do óleo de *C. zeylanicum* frente a diferentes concentrações de NaCl.

Pode-se definir o teste de fragilidade osmótica como a resistência da membrana eritrocitária a hemólise frente soluções salinas entre 0 e 0,9g/dL de NaCl com água destilada (JAIN, 1986). O meio pelo qual se evita a lise da membrana dos eritrócitos é devido o próprio controle do volume da célula através da exclusão do soluto (MAKINDE; BOBADE, 1994), Mascarenhas Netto, Penha-Silva e Rezende (2009) afirmam em seu estudo que, quando células são submetidas a meios hipotônicos, aumentam criticamente seu volume antes da ocorrência da lise.

Fatores como a tonicidade do meio e substancias interferentes na matriz da membrana, podem gerar alterações na integridade da membrana celular (MOUSINHO et al., 2008). Com a produção de diferentes meios de concentração salina pôde-se avaliar a proteção do óleo quanto à hemólise gerada pela tonicidade oferecida do meio. Nessa fase foram utilizadas seis concentrações de salina diferentes, sendo estas 0,12%, 0,24%, 0,36%, 0,48%, 0,60% e 0,72% e comparadas estas a primeira fase com a salina de 0,9%.

A definição dada ao teste de fragilidade osmótica é que serve como uma das formas de avaliar a resistência dos eritrócitos à hemólise, quando são expostos a soluções salinas hipotônicas (SANT'ANA; BIRGEL; MOURÃO; MIRANDOLA, 2001).

Os resultados observados, a partir da figura 3, nas suspensões feitas com salina a 0,12% e a 0,24% relatam uma proteção ineficaz, apresentando uma variação mínima entre os tempos de 1h e 2h, os resultados das concentrações salinas de 0,36%, 0,48% e 0,60% foram bem próximos do controle, e em algumas delas se relatou uma proteção contra a hemólise gerada pelo meio de acordo com a concentração do óleo, já os resultados da concentração de salina a 0,72% revelaram os melhores em comparação ao das outras concentrações, parte, revelando a proteção do óleo nessa concentração salina. A comparação dos resultados dessa segunda fase em relação a primeira fase, revelou que o quando submetidas a salina de 0,72%

e com o óleo, as hemácias sofrem menos lise do que sofreram com a salina de 0,90%, observados na figura 3. Maiworm et al (2007) em seu trabalho, observou que o extrato de *Lantana camara* ocasionou hemólise e alteração morfológica, diminuindo a resistência osmótica ao utilizar o ensaio de fragilidade osmótica.

Pode-se observar também que os resultados testes das duas concentrações (0,72% e 0,90%) de salinas são parecidos, a hemólise gerada por causa do meio osmótico (controle) não diferenciou muito em relação aos testes, mostrando assim que o óleo pode ter gerado uma forma de proteção para hemácia em algumas concentrações, inibindo assim a hemólise, Souza e Silva (2008) relataram que o etanol tanto em condições hipotônicas ou hipertônicas gera ação caotrópica dos eritrócitos, e em adição de salina ao meio, gera efeito osmoestabilizador.

4 CONCLUSÃO

Em conclusão, o principal componente identificado do óleo foi o cinamaldeído, o qual é atribuído a sua principal ação. É sugerido que o óleo essencial de *C. zeylanicum* em contato com hemácias em meio isotônico, não afetaria sua membrana e não causaria a sua lise. Entretanto, este óleo em contato com as hemácias em meios hipotônicos, que normalmente causaria hemólise, não protege a célula na maioria das concentrações, contribuindo para a lise. Quanto aos tempo de 1h e 2h, observa-se que em algumas concentrações houve uma variação significativa do resultado, aumentando, portanto a hemólise celular nos tempos de 2h. Para obtenção de resultados mais consistentes, se tem perspectivas futuras para realização de mais análises.

REFERÊNCIAS

ABRIFA – Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais, produtos químicos aromáticos, fragrâncias, aromas e afins. 2007. Disponível em <http://www.abifra.org.br/bpf/Alde%EDdo%20cin%E2mico.pdf>, acesso em 19/03/2013.

ALBERTS B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WATSON, J. D. Molecular Biology of the Cell. New York e London: Garland Publishing Inc, 2002.

AMMUS, S.; YUNIS, A. Drug-induced red cell dyscrasias. **Blood Reviews**. v. 3, n. 2, 1989.
 ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; MALLETT, A. C. T.; MACHADO, S. M. F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista Ciência Agronômica**. v. 43, n. 2, p. 399-408, 2012.

AZAMBUJA, V. **Óleos essenciais o guia do Brasil**. 2009. Disponível em http://oleosessenciais.org/category/padroes_tipos/padroes/a_d_padroes/aldeido_cinamico/. Acesso em 19/03/2013.

BATISTA, M. T. A.; RODRIGUES, H. G.; FONSECA, L. C.; BONETTI, A. M.; PENHA-SILVA, N.; NERES, A. C.; AVERSI-FERREIRA, T. A. Estudo dos efeitos do pesticida da classe glicina substituída sobre eritrócitos humanos. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 3, n. 2, 2007.

BATISTA, M. T. A.; RODRIGUES, H. G. R.; FONSECA, L. C.; BONETTI, A. M.; PENHA-SILVA, N.; NERES, A. C.; AVERSI-FERREIRA, T. A. Study of the class glicyn substituted pesticide on human erythrocytes. **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**. v. 3, n. 2, 2006.

BENARROZ, M. O.; FONSECA, A. S.; ROCHA, G. S.; FRYDMAN, J. N.; ROCHA, V. C.; PEREIRA, M. O.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of *Cinnamomum zeylanicum* treatment on radiolabeling of blood constituents and morphology of red blood cells in Wistar rats. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 51, p. 143-149, 2008.

CARMO, E. S.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; SOUSA, F. B. Effect of *cinnamomum zeylanicum* blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**. v. 39, n. 1, p. 91-97, 2008.

CAVALCANTI, T. C.; GREGORINI, C. C.; GUIMARÃES, F.; RETTORI, O.; VIEIRA; MATOS, N. A. Mudanças nos glóbulos vermelhos fragilidade osmótica induzida por plasma total e frações do plasma obtido de ratos portadores de variantes progressivas e regressivas do tumor de Walker 256. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2003.

CINARA, L.; BOLLINI, A.; GAYOL MDEL, C.; HERNANDEZ, G.N. In vitro effect of insulin on rats erythrocytes rheological behaviour. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**. v. 35, n. 3, 2006.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química nova**, v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

DIDELON, J.; MAZERON, P.S.; MULLER, STOLTZ, J.F. Fragilidade osmótica da membrana do eritrócito: caracterização por modelação da curva de transmitância em função da concentração de NaCl. *Biorheol.* 2000.

DI STASI, L.C. Plantas medicinais verdades e mentiras: o que os usuários e os profissionais de saúde precisam saber. **Coleção saúde e cidadania.** UNESP. São Paulo, 2007. Disponível em: http://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=meqx1wz_tVoC&oi=fnd&pg=PA7&dq=Plantas+medicinais+verdades+e+mentiras:+o+que+os+usu%C3%A1rios+e+os+profissionais+de+sa%C3%BAde+precisam+saber&ots=K1KfPdWyVX&sig=KqvhMYmouo0T201P VFxjCn03o0I. Acessado em 10/03/2013.

FREIRE, J. M. Óleos essenciais de canela, manjerona e anis-estrelado: caracterização química e atividade biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*. Dissertação (Mestrado). Programa de pós-graduação Stricto Sensu em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais. 2008.

FREIRE, J. M.; CARDOSO, M. G.; BATISTA, L. R.; ANDRADE, M. A. Óleo essencial de *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Gancho. f. e *Cinnamomum zeylanicum* Blume: caracterização química e antimicrobiana. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**. v. 13, n. 2, 2011.

FIRMINO, C. B. Influência da idade de doadoras humanas sobre a estabilidade de seus eritrócitos. Tese de Doutorado. Área de Genética Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. 2007.

GIANI, T. S.; PAOLI, S.; PRESTA, G. A.; MAIWORM, A. I.; SANTOS-FILHO, S. D.; FONSECA, A. S.; BERNARDO-FILHO, M. Assessment of effects of a formula used in the traditional Chinese medicine (*Buzhong Yi Qi Wan*) on the morphologic and osmotic fragility of red blood cells. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 17, n. 4, 2007.

GOUVÊA-E-SILVA, L. F. Caracterização da estabilização de eritrócitos por etanol. Dissertação de Mestrado. Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. 2006.

GROSSMAN, L.; ZITUNE, G.; JANUÁRIO, S. Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde. Optionline, 2005.

JAIN, N. C. Hematology techniques. Shalm's veterinary haematology. Philadelphia: LeaFebiger. 1986.

LIMA, C. D. N.; BELLETTINI, M.T.; CHEIRUBIN, A.P.; JANANI, J.K.; VIEIRA, M.A.V.; AMADOR, T.S. Uso de Plantas Medicinais pela População da Zona Urbana de Bandeirantes-PR. *Revista Brasileira de Biociências*. v. 5, n. 1, 2007.

LIMA, M.R. F.; XIMENES, E. C. P. A.; LUANA, J. S.; SANT'ANA, J. S. L. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 16, n. 3, p. 300-306, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*. v. 25, n. 3, p. 429-438, 2001.

MAIWORM, A. I.; PRESTA, G. A.; SANTOS-FILHO, S. D.; PAOLI, S.; GIANI, T. S.; FONSECA, A. S.; BERNARDO-FILHO, M. Osmotic and morphological effects on red blood cell membrane: action of an aqueous extract of *Lantana camara*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v18, n1. 2008.

MAKINDE, M.O.; BOBADE, P.A. Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs infected with parasites. *Japanese Journal of Veterinary science*. v. 57, n. 3, 1994.

MARIGLIANO, V.; TARZIA, A.; MODESTI, D.; MASELLA, R.; CANTAFORA, A.; BAUCO, C.; SALVATI, A. M.; SCUTERI, A.; CAPRARI, P. Aging and red blood cell membrane: a study of centenarians. *Experimental Gerontology*. 1999.

MARQUES, C. A. Importância Econômica da Família *Lauraceae* Lindl. *Floresta e Ambiente*. v. 8, n. 1, p. 195-206, 2001.

MASCARENHAS NETTO, R. C.; PENHA-SILVA, N.; REZENDE, C.H.A. **Estabilidade de membrana de eritrócitos em portadores de depressão**. Dissertação de mestrado em genética bioquímica. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2009.

MAZZANTI, L.; FRANCESCHI, C.; NANETTI, L.; SALVOLINI, E.; STAFFOLANI, R.; MORETTI, N.; RABINI, R. A. Reduced susceptibility to peroxidation of erythrocyte plasma membranes from centenarians. *Experimental Gerontology*. 2002.

MOUSINHO, K. C.; CORREIA, M. B. L.; SILVA, J. O.; MAGNATA, S. S. L.; SOUZA, I. A.; CATANHO, M. T.J. A. Effect of the extract of *Ricinus communis* L. on the osmotic fragility, labeling of red blood cells with Technetium-99m and morphology of the cells. *Braz. arch. biol. technol.* [serial on the Internet]. v. 51, n. 6, 2008.

OLIVEIRA, J.F.; AVILA, A.S.; BRAGA, A.C.S.; OLIVEIRA, M.B.N.; BOASQUEVISQUE, E.M.; JALES, R.L.; CARDOSO, V.N.; BERNARDO-FILHO, M. Effect of extract of medicinal plants on the labeling of blood elements with technetium-99m and on the morphology of red blood cells: I - a study with *Paullinia cupana*. **Fitoterapia**. 2002.

RODRIGUES, H.G.; BATISTA, M.T.A.; FONSECA, L.CFERREIRA, T.A.A. Efeitos de pesticidas sobre a fragilidade osmótica de eritrócitos – Uma breve revisão. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 7-16, 2011.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H.; MOURAO, G. B.; MIRANDOLA, R. M. S. Fragilidade osmótica dos eritrócitos de bovinos das raças holandesa, girolando e gir, criados no estado de São Paulo. **Ciências Rurais [online]**. v. 31, n. 4, 2001.

SCHIAR, V. P. P.; SANTOS, D. B.; LUDTIKE, D. S.; VARGAS, F.; PAIXÃO, M. W.; NOGUEIRA, C. W.; ZENI, G.; ROCHA, B. T. Screening of potentially toxic chalcogens in erythrocytes. **Toxicology in vitro**, v. 21, n. 1, 2007.

SOUSA, R. L. P.; SILVA, N. P. Efeito da concentração salina sobre a estabilidade de eritrócitos humanos em soluções de etanol. Dissertação de Mestrado. Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais. 2008.

SPENGLER, M. I.; LEROUX, M. B.; SVETAZ, M. J.; CONTESTI, J. F.; PARENTE, F. M.; BERTOLUZZO, S. M. Nifedipina efeito sobre as propriedades reológicas de glóbulos vermelhos em pacientes com esclerodermia sistêmica. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**. 2007.

SRINIVASAN, K.; KEMPAIAH, R. K. Beneficial influence of dietary curcumin, capsaicin and garlic on erythrocyte integrity in high-fat fed rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 17, n. 7, 2006.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. D. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**. v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.