

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Utilização de sensores biológicos baseados em células de resposta imune no estudo da atividade antialérgica de substâncias naturais

Fabiana Cristina Bonilha Valeri

Ribeirão Preto  
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Utilização de sensores biológicos baseados em células de resposta imune no estudo da atividade antialérgica de substâncias naturais

Tese de Doutorado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Produtos naturais e sintéticos

Orientada: Fabiana Cristina Bonilha Valeri

Orientadora: Profa. Dra. Rose Mary Zumstein  
Georgetto Naal

Ribeirão Preto  
2009

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Valeri, Fabiana Cristina Bonilha  
Utilização de sensores biológicos baseados em células de resposta imune no estudo da atividade antialérgica de substâncias naturais. Ribeirão Preto, 2009.  
p. : il. ; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos naturais e sintéticos.  
Orientadora: Naal, Rose Mary Zumstein Georgetto

1. Biossensor. 2.  $\beta$ -Hexosaminidase. 3. Atividade antialérgica

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do aluno: **Fabiana Cristina Bonilha Valeri**

Título do trabalho: **Utilização de sensores biológicos baseados em células de resposta imune no estudo da atividade antialérgica de substâncias naturais.**

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Produtos Naturais e sintéticos

Orientadora: Profa. Dra Rose Mary Zumstein Georgetto Naal

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

## Agrededimentos

“Senhor, tu chegas ao mais profundo  
de mim e me conheces por dentro. Sabes  
quando não sei o que fazer; Entendes  
minhas ilusões e meus desejos como se fossem teus;  
Em meu caminho puseste uma trilha,  
em meu descanso te sentaste a meu lado;  
Tocaste todos os meus projetos palmo a palmo”

*Salmo 139*

**“ Deus é o começo, o meio e o fim”**

*-Platão-*

## Agradecimento Especial

Ao Prof. Dr. João B. S. Bonilha, mestre e mentor, pelo apego a ciência, pelo espírito universitário e conselhos inestimáveis para a vida acadêmica.

Ao Prof. Bonilha, companheiro de profissão, pela oportunidade e alegria vividas juntos no ambiente profissional, pelo exemplo de carinho e respeito com que sempre conduziu seus orientados.

Ao João, amigo, pelos estímulos oportunos, pela paciência desmedida e pela humildade honesta.

Enfim, ao meu amado pai, que sempre norteou nossos passos com ternura, amparou nossos erros com compreensão e nos mostrou sua verdade com amor e fé.

Dedico a memória de meu pai, que mesmo estando entre Serafins e Querubins, ainda me faz sentir segura, alegre e livre.

À minha Mãe,

Que me deu o Dom da vida e me ensinou a vivê-la com dignidade e respeito, pelas horas que iluminou meu caminho e me afastou da escuridão, pela renúncia de seus sonhos para a realização dos meus, pelo olhar terno e profundo de amiga, mãe e avó, pelo seu tempo, paciência e fé de acreditar que se eu fizer o meu possível Deus fará o impossível por mim.

O meu mais profundo agradecimento.

Ao Frederico,

Companheiro único, irmão fiel e amigo incansável, cúmplice das minhas angústias e alegrias, alma gêmea escolhido de outras vidas, obrigado pelo extremo apoio e paciência desmedida.

Às minhas filhas,

Pelo tempo em que roubamos o convívio, pelo repleto entusiasmo quando este me faltava, pelos carinhos e sorrisos sinceros e paciência desmedida; Victória, Júlia e Sarah, fiéis escudeiras, continuidade da minha vida e milagre da criação.

Que Deus as abençoe sempre razão da minha existência.

À Flavia e Gustavo,

Pela amizade sincera, cumplicidade compartilhada, pelos conselhos oportunos, pelo carinho, apoio e uma ótima convivência familiar.

À Érika e Fabiano,

Pelos momentos de grande alegria, amizade, apoio e carinho.

À vó Tatá,

Pelo amor sublime e carinho desmedido dado as minhas filhas.

À Heloísa, Shirley e Joaquim, pelo grande incentivo e apoio em todos os momentos

Ao Prof. Dr. Fábio Valiengo Valeri,

Primeiramente por sempre ter me acolhido como filha, pelos conselhos oportunos e incentivos fervorosos, pelo apoio, carinho e extrema confiança, assim como exemplo de uma irredutível paixão pela ciência.

À vó Ana,

Pela oportunidade de congregação familiar, pelo apoio, carinho e exemplo de fibra.

Ao Fabinho, (*in memoriam*)

Pelo exemplo de luta, perseverança, fé e um inquebrantável amor pela vida. Ore sempre por nos, anjo que és.

À Rose,

Pela oportunidade dada, pela orientação solícita, pelos conselhos oportunos, pelo apoio, amizade e principalmente pela enorme paciência. Você foi uma grata surpresa

Rose, tenha a certeza que mesmo não estando no meio de nós, meu pai está orgulhoso da orientadora que ele ajudou a modelar.

Ao prof. Zeki,

Pelos cálculos, sugestões, apoio, amizade e paciência.

À Perpetua,

Pelo apoio irrestrito, confiança, carinho, amizade e respeito, sempre compartilhados num ótimo ambiente de trabalho.

À Denise, Marcela e Laila,

Pelo importante apoio que me foi dado, sempre com boa vontade e especial dedicação, e é claro muito bom humor.

Aos meus colegas de laboratório,

Pela respeito, carinho, amizade, companheirismo e paciência

À Rosana;

Pelo carinho e apoio

Aos professores Norberto Peporini Lopes, Dionéia Camilo Rodrigues de Oliveira, Silvana Maria de Oliveira Santin e César Andrei,

Meu muito obrigada pela contribuição das substâncias naturais.

À CAPES, FAPESP e IM- INOFAR pelo apoio financeiro.

À todos aqueles que colaboraram direto ou indiretamente, os meus mais profundos e sinceros agradecimentos.



# SUMÁRIO

<b>Resumo</b>	<b>i</b>
<b>Abstract</b>	<b>ii</b>
<b>Lista de figuras</b>	<b>iii</b>
<b>Lista de tabelas</b>	<b>xii</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas</b>	<b>xiv</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Biossensores baseados em células</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Mastócitos</b>	<b>6</b>
<b>2.3. Linhagem de Células RBL-2H3</b>	<b>7</b>
<b>2.4. Ensaios biológicos como sistemas biossensores</b>	<b>8</b>
<b>2.5. Doenças Alérgicas</b>	<b>9</b>
<b>2.6. Produtos naturais e novos fármacos</b>	<b>10</b>
<b>2.7. Ciclodextrinas e complexos de inclusão</b>	<b>13</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>19</b>
<b>4.1. Material</b>	<b>20</b>
<b>4.2. Métodos</b>	<b>25</b>
<b>4.2.1. Estudos espectroscópicos das substâncias naturais em meio homogêneo (tampão) e microheterogêneo (<math>\beta</math>-ciclodextrina)</b>	<b>25</b>
<b>4.2.2. Determinação da solubilidade máxima (<math>S_0</math>) das substâncias naturais em água e determinação do coeficiente de absorvidade molar (<math>\epsilon</math>)</b>	<b>26</b>
<b>4.2.3. Determinação do parâmetro de hidrofobicidade (<math>\log P</math>) para substâncias naturais</b>	<b>26</b>
<b>4.2.4. Diagramas de fases de solubilidade das substâncias naturais em <math>\beta</math>-ciclodextrina</b>	<b>26</b>
<b>4.2.5. Determinação do coeficiente de absorvidade molar dos complexos de inclusão(<math>\epsilon_c</math>)</b>	<b>27</b>

4.2.6. Preparação dos complexos de inclusão sólidos das substâncias naturais com a $\beta$ -ciclodextrina (SN/ $\beta$ -CD)	28
4.2.7. Caracterização dos complexos de inclusão sólidos	28
4.2.7.1. Análise Termogravimétrica (TG) e Análise Térmica Diferencial Simultânea (DTA)	29
4.2.7.2. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	29
4.2.7.3. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)	29
4.2.7.4. Ressonância magnética nuclear (RMN- $^1\text{H}$ )	29
4.2.8. Crescimento e manutenção da cultura de mastócitos da linhagem RBL-2H3	30
4.2.8.1. Congelamento da linhagem celular	30
4.2.8.2. Descongelamento da linhagem celular	31
4.2.8.3. Sensibilização das células	31
4.2.9. Avaliação da atividade antialérgica das substâncias naturais	31
4.2.9.1. Quantificação da enzima $\beta$ -hexosaminidase pelo ensaio direto	32
4.2.9.2. Forma de análise dos resultados obtidos para a liberação de $\beta$ -hexosaminidase	33
4.2.9.3. Análise Estatística	33
4.2.9.4. Inibição da atividade enzimática da $\beta$ -hexosaminidase	33
4.2.9.5. Viabilidade celular	34
4.3. Aparelhagem	
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1. Avaliação das propriedades espectroscópicas das substâncias naturais em meio homogêneo (aquoso) e microheterogêneo ( $\beta$ -CD)	37
5.1.1. Absorbância	38
5.1.2. Fluorescência	43
5.2. Determinação de parâmetro físico-químico para interação hidrofóbica ( $\log P$ )	49
5.3. Complexos de inclusão de flavonóides com a $\beta$ -ciclodextrina	50
5.3.1. Complexos de inclusão em meio aquoso	50
5.3.2. Determinação do coeficiente de absorvidade molar dos flavonóides e ácidos polifenólicos nos complexos de inclusão ( $\epsilon_c$ )	59
5.3.3. Preparação e caracterização do complexo de inclusão sólido	62

5.3.3.1. Análise Térmica Diferencial (DTA) e Análise termogravimétrica (TG)	63
5.3.3.2. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	69
5.3.3.3. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	75
5.3.3.4. Ressonância magnética nuclear de prótons (RMN- <sup>1</sup> H)	82
5.4. Atividade antialérgica das substâncias naturais: aplicação do modelo biossensor baseado em mastócitos	109
5.4.1. Flavonóides	113
5.4.2. Ácidos polifenólicos	117
5.4.3. Alcalóides	118
5.4.4. Terpenos	118
5.4.5. Iridóides	118
5.4.6. Inibição da atividade enzimática da $\beta$ -hexosaminidase	134
5.4.7. Ensaio enzimático direto para a enzima $\beta$ -hexosaminidase em presença de extratos obtidos de diferentes fontes.	146
5.4.8. Efeito dos compostos de inclusão flavonóides/ $\beta$ -ciclodextrinas na inibição da degranulação de mastócitos	156
6. CONCLUSÕES	161
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	163
8. ANEXO	179

## RESUMO

VALERI, F.C. B. **Utilização de sensores biológicos baseados em células de resposta imune no estudo da atividade antialérgica de substâncias naturais.** 2009. 179p. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Neste trabalho foram investigadas a atividade antialérgica de extratos, ou substâncias isoladas, obtidos de fontes naturais. Para isso foi utilizado o sistema biossensor baseado em mastócitos os quais liberam a enzima  $\beta$ -hexosaminidase usada como marcador da degranulação. Para algumas substâncias naturais da classe dos flavonóides (quercetina-Qc e rutina-Rt) e ácidos polifenólicos (ácido dimetoxicinâmico-Dm e ácido cafeico-Cf), os ensaios biológicos foram conduzidos na presença de  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) a fim de estudar a eficiência do ensaio biológico e o efeito de complexação na atividade antialérgica. Inicialmente, foram investigadas, as propriedades espectroscópicas destes flavonóides e ácidos polifenólicos, na ausência, e presença de  $\beta$ -CD. As mudanças nos espectros de absorção e fluorescência, em presença de  $\beta$ -CD, mostraram que ocorre a associação dos fármacos com a  $\beta$ -CD. Assim, as constantes de incorporação ( $K_c$ ) foram determinadas pelo método de Higuchi e Connors e os resultados mostraram maior incorporação da Qc ( $K_c = 172 \text{ M}^{-1}$ ) na cavidade da  $\beta$ -CD quando comparada a Rt ( $K_c = 139 \text{ M}^{-1}$ ). No caso dos polifenóis, Dm mostrou incorporação maior em relação ao Cf, com valores de  $K_c$  iguais a 718 e 278  $\text{M}^{-1}$ , respectivamente. Os valores de  $K_c$  foram considerados apropriados para a aplicação de compostos de inclusão como agentes terapêuticos. Assim, os complexos de inclusão sólidos, foram preparados por uma adaptação do método da co-evaporação e caracterizados por Análise Termogravimétrica (TGA), Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear de Prótons ( $^1\text{H-RMN}$ ). O parâmetro físico-químico para interação hidrofóbica ( $\log P$ ) foi determinado para os flavonóides e ácidos polifenólicos e os resultados indicaram que a hidrofobicidade seguiu a seguinte ordem:  $\text{Dm} > \text{Cf} > \text{Qc} > \text{Rt}$ . Os complexos de inclusão foram mais eficazes para inibir a liberação da  $\beta$ -hexosaminidase do que os fármacos na forma livre. A atividade anti-alérgica da Qc livre ( $\text{IC}_{50} = 5,1 \mu\text{M}$ ) mostrou um aumento de oito vezes quando complexada com a  $\beta$ -CD ( $\text{IC}_{50} = 0,62 \mu\text{M}$ ). Um aumento da atividade foi observado, também, para os complexos Rt/ $\beta$ -CD, Cf/ $\beta$ -CD e Dm/ $\beta$ -CD. Este efeito foi mais forte para os compostos com maior hidrofobicidade. A atividade antialérgica das substâncias naturais livres provenientes de várias classes de plantas tais como flavonóides, ácidos polifenólicos, terpenos, alcalóides e iridóides foi, também, investigada. Os flavonóides tais como quercetina ( $\text{IC}_{50} = 5,1 \mu\text{M}$ ), 7-metil quercetina ( $\text{IC}_{50} = 6,2 \mu\text{M}$ ), caempferol-3-glicosídeo ( $\text{IC}_{50} = 6,7 \mu\text{M}$ ) and 4'-O-(6''-trans-p-coumaroil)- $\beta$ -D-glicopyranosil okanina ( $\text{IC}_{50} = 5,8 \mu\text{M}$ ) mostraram a maior atividade antialérgica comparados ao fumarato de cetotifeno ( $\text{IC}_{50} = 15,1 \mu\text{M}$ ). Os extratos provenientes de diversas espécies de plantas tais como *Bidens sulphurea*, *Bidens gardneri*, *Bidens graveolens*, *Mikania parodii* Cabrera e *Mikania pilosa* Baker foram, também, investigados. Os resultados mostraram maior atividade para o extrato de *Bidens* obtido de acetato de etila. Este extrato é rico em derivados metilados de quercetina os quais exibiram forte atividade antialérgica quando utilizados no ensaio biológico como substância isolada.

**Palavras-chave:** Biossensor, mastócitos,  $\beta$ -hexosaminidase, atividade antialérgica, compostos de inclusão, ciclodextrinas, substâncias naturais.

## ABSTRACT

VALERI, F.C.B. **Biological sensors based on immune response cells applied to the study of anti-allergic activity of natural compounds.** 2009. 171p. Thesis (Doctorate Degree). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

Anti-allergic activity of extracts and isolated compounds obtained from natural sources was investigated using the mast-cell based biosensor system. Mast cells release  $\beta$ -hexosaminidase enzyme which is used as a marker of degranulation. Flavonoids (quercetin-Qc and rutin-Rt) and polyphenolic acids (caffeic acid-Cf and dimethoxy cinnamic acid-Dm) were used as inclusion compounds with  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) in order to compare the efficiency of the biological assay and the anti-allergic activity of the drugs free or associated with  $\beta$ -CD. Spectroscopic properties of the flavonoids and polyphenolic acids were monitored in the absence or presence of  $\beta$ -CD. The absorbance and fluorescence spectra showed drug association with  $\beta$ -CD; subsequently the stability constants ( $K_c$ ) of the drugs were obtained in accordance with the method of the Higuchi-Connors. The results showed higher association of Qc with  $\beta$ -CD ( $K_c = 172 \text{ M}^{-1}$ ) compared to Rt ( $K_c = 139 \text{ M}^{-1}$ ). For the polyphenolic acids, Dm exhibited the higher association with  $\beta$ -CD compared to Cf (718 and  $278 \text{ M}^{-1}$  respectively). The  $K_c$  values fell within the range considered adequate for the formation of inclusion complex, and they can be used to improve the bioavailability of the flavonoids and polyphenolic acids. The solid inclusion compounds were obtained by an adaptation of the co-evaporation method and characterized by Thermo Gravimetric Analysis (TG), Differential Thermal Analysis (DTA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ( $^1\text{H}$  NMR). Physico-chemical parameter for hydrophobic interaction ( $\log P$ ) was determined for the flavonoids and polyphenolic acids and the results indicated that the hydrophobicity followed the order:  $\text{Dm} > \text{Cf} > \text{Qc} > \text{Rt}$ . The inclusion complexes were more effective at inhibiting  $\beta$ -hexosaminidase release than plain drugs. The anti-allergic activity of plain Qc ( $\text{IC}_{50} = 5.05 \text{ }\mu\text{M}$ ) showed eightfold improvement when included inside the  $\beta$ -CD cavity ( $\text{IC}_{50} = 0.62 \text{ }\mu\text{M}$ ). Higher biological activity on the part of the complex was also observed for the complexes Rt/ $\beta$ -CD, Cf/ $\beta$ -CD and Dm/ $\beta$ -CD. This effect was stronger for the compounds with higher hydrophobicity. The anti-allergic activity of plain natural compounds from several classes of plants such as flavonoids, polyphenolic acids, terpenes, alkaloids and iridoids was investigated. Flavonoids such as quercetin ( $\text{IC}_{50} = 5.1 \text{ }\mu\text{M}$ ), 7-methyl quercetin ( $\text{IC}_{50} = 6.2 \text{ }\mu\text{M}$ ), kaempferol-3-glycoside ( $\text{IC}_{50} = 6.7 \text{ }\mu\text{M}$ ) and 4'-O-(6''-trans-p-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranosyl okanin ( $\text{IC}_{50} = 5.8 \text{ }\mu\text{M}$ ) showed the stronger anti-allergic activity compared with ketotifen fumarate, a reference drug ( $\text{IC}_{50} = 15.1 \text{ }\mu\text{M}$ ). Extracts proceeding from different species of plants such as *Bidens sulphurea*, *Bidens gardneri*, *Bidens graveolens*, *Mikania parodii* Cabrera and *Mikania pilosa* Baker were also investigated. The results showed stronger anti-allergic activity for ethyl acetate extracts obtained from *Bidens* specie. This extracts are rich in methylated quercetin derivatives which showed strong anti-allergic activity when assayed as isolated substances.

**Key words:** Biosensor, mast cells,  $\beta$ -hexosaminidase, anti-allergic activity, inclusion compounds, cyclodextrin, natural compounds.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Principais etapas envolvidas no processo de ativação celular com liberação de mediadores químicos de respostas alérgicas. **(A)** Célula em repouso (antes da ligação do antígeno). **(B)** Célula estimulada.
- Figura 2.** Função enzimática da  $\beta$ -hexosaminidase na clivagem de seus substratos fluorogênicos. Metilumbeliferil-N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminida (MUG) clivado pela enzima produz N-acetilglucosaminida e metilumbeliferona que é fluorescente).
- Figura 3.** Principais estruturas básicas dos compostos fenólicos (A) Flavonas ( $R_2 = H$ ) e flavonóis ( $R_2 = OH$ ), (B) flavanonas e (C) isoflavonas. Substituintes 1-7 variam de acordo com o produto isolado (Ex. OH, OCH<sub>3</sub>, etc).
- Figura 4.** A) Configuração mais estável da ciclodextrina. B) Estrutura da  $\alpha$ -ciclodextrina.
- Figura 5.** Dimensão das cavidades de diferentes ciclodextrinas.
- Figura 6.** Estrutura da quercetina, destacando o sistema cinamoil (linha tracejada).
- Figura 7.** Transição eletrônica permitida para a quercetina e flavonóides similares.
- Figura 8.** Equilíbrio ácido-base para a quercetina.
- Figura 9.** Estrutura da rutina.
- Figura 10..** Estrutura do ácido cafeico
- Figura 11.** Estrutura do ácido dimetoxicinâmico.
- Figura 12.** Espectro de absorção **(A)** e fluorescência **(B)** da quercetina, na ausência, e presença de  $\beta$ -CD (24h e 96h após a preparação do complexo de inclusão).  $\lambda_{exc} = 365$  nm. Fendas de 5 nm. Temperatura de 25 °C.
- Figura 13.** Espectro de absorção **(A)** e fluorescência **(B)** da rutina, na ausência e presença de  $\beta$ -CD (24 h e 96 h após a preparação do complexo).  $\lambda_{exc} = 350$  nm. Fendas de 5 nm. Temperatura de 25 °C.
- Figura 14.** Espectro de absorção **(A)** e fluorescência **(B)** do ácido cafeico, na ausência e presença de  $\beta$ -CD (24 h e 96 h após a preparação do complexo).  $\lambda_{exc} = 310$  nm. Fendas de 5 nm. Temperatura de 25 °C.
- Figura 15.** Espectro de absorção **(A)** e fluorescência **(B)** do ácido dimetóxi-cinâmico, na ausência e presença de  $\beta$ -CD (24 h e 96 h após a preparação do complexo).  $\lambda_{exc}=310$  nm. Fendas de 5 nm. Temperatura de 25 °C.

- Figura 16.** Curva de calibração para a quercetina (A) e rutina (B) determinadas, respectivamente, nos comprimentos de onda de absorção iguais a 365 e 350 nm, na temperatura de 25 °C. Inseto: Inflexão na curva de calibração cuja concentração corresponde aos valores de  $S_0$  iguais a 29,8  $\mu\text{M}$  e 53,0  $\mu\text{M}$ , para quercetina e rutina, respectivamente.
- Figura 17.** Curva de calibração para o ácido dimetóxi-cinâmico (A) e ácido cafeico (B) determinadas, respectivamente, nos comprimentos de onda de absorção iguais a 310 nm, na temperatura de 25 °C. Inseto: Inflexão na curva de calibração cuja concentração corresponde aos valores de  $S_0$  iguais a 60,0  $\mu\text{M}$  e 75,0  $\mu\text{M}$ , para o ácido dimetóxi-cinâmico e ácido cafeico, respectivamente.
- Figura 18.** Diagramas de fases de solubilidade de fármacos na presença de ciclodextrinas {Uekama, 1987 #128}.
- Figura 19.** Diagrama de solubilidade para a quercetina (A), rutina (B), ácido dimetóxi-cinâmico (C) e ácido cafeico (D) complexadas com a  $\beta$ -ciclodextrina, a 25 °C. A inclinação destas curvas fornece a constante de incorporação,  $K_c$ , de acordo com o método de Higuchi e Connors, 1965.
- Figura 20.** Absorbância versus a concentração de  $\beta$ -CD para a determinação do ponto de saturação ( $A_s$ ) da  $\beta$ -CD pelas SNs; quercetina(A), rutina(B), dimetóxi-cinâmico (C) e ácido cafeico (D). Inflexão nas curvas corresponde aos valores de  $A_s$ .
- Figura 21.** (Azul) Análise termogravimétrica (TG) e (vermelho) análise térmica diferencial (DTA), para a quercetina (A), complexo de inclusão quercetina/ $\beta$ -CD (B), mistura física quercetina/ $\beta$ -CD (C) e  $\beta$ -CD livre (D).
- Figura 22.** (Azul) Análise termogravimétrica (TG) e (Vermelho) análise térmica diferencial (DTA), para a rutina (A), complexo rutina/ $\beta$ -CD (B), mistura física rutina/ $\beta$ -CD (C) e  $\beta$ -CD livre (D).
- Figura 23.** (Azul) Análise termogravimétrica (TG) e (Vermelho) análise térmica diferencial (DTA), para o ácido dimetóxi-cinâmico(A), complexo Dm/ $\beta$ -CD (B), mistura física Dm/ $\beta$ -CD (C) e  $\beta$ -CD livre (D).
- Figura 24.** (Azul) Análise termogravimétrica (TG) e (Vermelho) análise térmica diferencial (DTA) , para o ácido cafeico (A), complexo Cf/ $\beta$ -CD (B), mistura física Cf/ $\beta$ -CD (C) e  $\beta$ -CD livre (D).
- Figura 25.** Calorimetria Diferencial de Varredura. Termogramas da quercetina (A),  $\beta$ -CD livre (B), mistura física quercetina/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão quercetina/ $\beta$ -CD (D).

- Figura 26.** Calorimetria Diferencial de Varredura. Termogramas da rutina (A),  $\beta$ -CD livre (B), mistura física rutina/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão rutina/ $\beta$ -CD (D).
- Figura 27.** Calorimetria Diferencial de Varredura. Termogramas do ácido dimetóxi-cinâmico (A),  $\beta$ -CD livre (B), mistura física do ácido dimetóxi-cinâmico/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão do ácido dimetóxi-cinâmico/ $\beta$ -CD (D).
- Figura 28.** Calorimetria Diferencial de Varredura. Termogramas do ácido cafeico (A),  $\beta$ -CD livre (B), mistura física do ácido cafeico/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão do ácido cafeico/ $\beta$ -CD (D).
- Figura 29.** Espectro FTIR para rutina livre (A),  $\beta$ -ciclodextrina (B); mistura física rutina/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão (D).
- Figura 30.** Espectro FTIR para quercetina livre (A),  $\beta$ -ciclodextrina (B); mistura física quercetina/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão (D).
- Figura 31.** Espectro FTIR para o ácido cafeico livre (A),  $\beta$ -ciclodextrina (B); mistura física ácido cafeico/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão (D).
- Figura 32.** Espectro FTIR para o ácido dimetóxi-cinâmico (A),  $\beta$ -ciclodextrina (B); mistura física ácido dimetóxi-cinâmico/ $\beta$ -CD (C) e complexo de inclusão (D).
- Figura 33.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios da Qc complexada com  $\beta$ -CD.
- Figura 34.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios de  $\beta$ -CD complexada.
- Figura 35.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Qc livre (acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 36.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de  $\beta$ -CD livre (acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 37.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Qc e  $\beta$ -CD complexados (acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 38.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Qc e  $\beta$ -CD complexados (acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 39.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Qc e  $\beta$ -CD complexados (acetona- $\text{d}_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 40.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios de  $\beta$ -CD complexada com Rt
- Figura 41.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Rt livre ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).



- Figura 42.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de  $\beta$ -CD livre ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 43.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Rt e  $\beta$ -CD complexados ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 44.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Rt e  $\beta$ -CD complexados ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 45.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de Rt e  $\beta$ -CD complexados ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 46.** Mapa de contornos ROESY Rt e  $\beta$ -CD complexados ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 47.** Expansão do mapa de contornos ROESY Rt e  $\beta$ -CD complexados ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 48.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do Cf complexado com  $\beta$ -CD.
- Figura 49.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios de  $\beta$ -CD complexada com Cf.
- Figura 50.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do Cf livre ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 51.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da  $\beta$ -CD livre ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 52.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo Cf/ $\beta$ -CD ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 53.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo Cf/ $\beta$ -CD ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 54.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo Cf/ $\beta$ -CD ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 55.** Mapa de contornos ROESY do complexo Cf/  $\beta$ -CD ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 56.** Expansão do mapa de contornos ROESY do complexo Cf/  $\beta$ -CD ( $\text{D}_2\text{O}$ , 500 MHz).
- Figura 57.** Alterações observadas nos deslocamentos químicos dos hidrogênios do DM e da  $\beta$ -CD do complexo DM/  $\beta$ -CD.
- Figura 58.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do DM livre ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 59.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da  $\beta$ -CD livre ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 60.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo DM/ $\beta$ -CD ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 61.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo DM/ $\beta$ -CD ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{D}_2\text{O}$  1:1, 500 MHz).
- Figura 62.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo DM/ $\beta$ -CD ( $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $\text{D}_2\text{O}$

1:1, 500 MHz).

- Figura 63.** Porcentagem de beta-hexosaminidase liberada, quando as células são estimuladas pelo antígeno DNP-BSA em diferentes concentrações, usando o método direto.
- Figura 64.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada pelas células RBL-2H3, estimuladas por diferentes concentrações de antígeno, na presença de rutina 5  $\mu$ M. Ensaio direto com tempo de incubação de 90 minutos.
- Figura 65.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada pelas células RBL-2H3, estimuladas por concentração fixa de antígeno (DNP-BSA 0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações de quercetina (A) e de rutina (B). Ensaio direto com tempo de incubação variando de 0 a 120 minutos.
- Figura 66.** Efeito do fumarato de cetotifeno sobre a  $\beta$ -hexosaminidase liberada de células RBL-2H3: (●) Inibição da  $\beta$ -hexosaminidase; (■) Liberação espontânea. Cada ponto representa a média de determinações realizadas em triplicata; \*p < 0.05 e \*\*p < 0.01 em comparação com o controle.
- Figura 67.** Efeito de citotoxicidade de quercetina e rutina sobre as células RBL-2H3 determinadas pelo ensaio do MTT. A porcentagem de viabilidade celular foi calculada em relação às células não tratadas. As células  $1,0 \times 10^5$  células/mL foram incubadas com os flavonóides a 37 °C por 24 h em 5 % CO<sub>2</sub>.
- Figura 68.** Estrutura da quercetina.
- Figura 69.** Estrutura da quercetina associado a um glicosídeo.
- Figura 70.** Estrutura da luteolina.
- Figura 71.** Estrutura da Apigenina.
- Figura 72.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Quercetina (A), Luteolina (B) e 7-metil quercetina (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 73.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Rutina (A) e Mangiferina (B). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 74.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) em diferentes concentrações dos

flavonóides: 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosilquercetina (Qu-Ga) (A), 3-O- $\alpha$ -D-galactopiranosilquercetina (Qu-Glic) (B) e 3-O-(6''-*trans*-cafeoil)- $\alpha$ -D-galactopiranosilquercetina (Qu-gap) (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*p < 0,05 e \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.

- Figura 75.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) em diferentes concentrações dos flavonóides: 3-O- $\beta$ -D-xilopiranosilquercetina (A), 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquercetina (B) e 3-O- $\alpha$ -L-arabinofuranosilquercetina (Qu-ara) (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*p < 0,05 e \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 76.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) em diferentes concentrações dos flavonóides: 6-C- $\alpha$ -D-glicopiranosilluteolina (A), 8-C- $\alpha$ -D-glicopiranosilluteolina (B) e 7- $\alpha$ -O-D-glicopiranosilluteolina (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 77.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Vicenina (A), caempferol-3-glicosídeo (Cp-glic) (B) e 7-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo-quercetagenina (Gp-Qu) (C) Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*p < 0,05 e \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 78.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Okanina 4'-O-D-Gentibiose (A) e 4'-O-(6''-*trans-p*-coumaroil)- $\alpha$ -D-glicopiranosil Okamina (B). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 79.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Toxicarina (A), Teprowatsina (B) e Glabranina (C) Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*p < 0,05; e \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 80.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu$ g/mL) na presença de diferentes concentrações dos flavonóides: Maritimetina-6-O-D-Gentiobiose (A) e 7-O- $\alpha$ -D-glicopiranosilapigenina (B). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*p < 0,05 e \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.

- Figura 81.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações dos ácidos clorogênicos: ácido cafeico (Cf) (A) e ácido dimetóxi-cinâmico (Dm) (B) e ácido 4-O-cafeoil-*D*-eritrônico (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 82.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações dos ácidos clorogênicos: ácido 5-*O*-cafeoilquinico (A), ácido 4,5-*O*-dicafeoilquinico (B) e ácido 3-*O*-cafeoilquinico (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 83.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações dos ácidos clorogênicos: ácido 3-*O*-cafeoilquinico (A) e ácido rosmarínico (B). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 84.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações dos alcalóides: Extrato *Duguetina furfuracea* (A), (-)-duguetina- $\beta$ -N-óxido (DfDgNO) (B), (-)-duguetina (DfDg) (C) e dicentriona (DfDic) (D). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 85.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações de terpenos: Ácido quinóico (A), ácido ursólico (B) e policarpol (C). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 86.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA (0,1  $\mu\text{g/mL}$ ) na presença de diferentes concentrações de irinóides: secoxiliganina (A) e asperulosídeo (B). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 87.** Efeito de quercetina (A) e 7-metil quercetina (B) sobre a atividade enzimática da  $\beta$ -hexosaminidase. Os níveis de inibição são de aproximadamente 19 % para ambas as substâncias indicando que a atividade antialérgica provém do forte potencial de ambas para inibir a degranulação.

- Figura 88.** Efeito de caempferol-3-glicosídeo (Cp-glic) (A) e 4'-O-(6''-trans-p-coumaroil)- $\beta$ -D-glicopiranosil Okanina (coumaroil-glic-Oka) (B) sobre a atividade enzimática da  $\beta$ -hexosaminidase. O nível de inibição é de aproximadamente 19 % para o Cp-glic e 14% para o coumaroil-glic-Oka, indicando que a atividade antialérgica provém do forte potencial de ambas para inibir a degranulação.
- Figura 89** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu$ g/mL, na presença de diferentes concentrações do extrato etanólico (A) e da fração eluída em AcOEt:MeOH (B) da espécie *Mikania parodii* Cabrera. Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 90.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA 0,1  $\mu$ g/mL na presença de diferentes concentrações do extrato etanólico (A) e da fração aquosa remanescente(B) da espécie *Mikania pilosa* Baker. Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 91.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu$ g/mL, na presença de diferentes concentrações de BsEt (A) e BsDcm (B) da espécie *Bidens sulphurea*: Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 92.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu$ g/mL, na presença de diferentes concentrações de BsMe (A) e BsH (B).da espécie *Bidens sulphurea*. Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 93.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu$ g/mL, na presença de diferentes concentrações da fração BsAcEt (A), BsAcp (B) e BsAcs (C) da espécie *Bidens sulphurea*: Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.
- Figura 94.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu$ g/mL, na presença de diferentes concentrações de BgEt (A) e BgMe (B) da espécie *Bidens gardneri*: Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\*p < 0,01 em comparação com o controle.

- Figura 95.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  na presença de diferentes concentrações de BgDcm (A), BgH (B) e BgAc (C), da espécie *Bidens gardneri*: Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 96.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, para as células estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , na presença de diferentes concentrações BgrEt (A), da espécie *Bidens graveolens*. Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão de determinações em triplicata; \*\* $p < 0,01$  em comparação com o controle.
- Figura 97.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, quando as células são estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , na presença de diferentes concentrações de quercetina livre (Qc) e complexada com a  $\beta$ -ciclodextrina (Qc/CD). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão das determinações em triplicata; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  em comparação com os controles. Qc : \*0,5 $\mu\text{M}$  ; \*\*1 $\mu\text{M}$ ; \*\*\*5, 10 e 50  $\mu\text{M}$ . Qc/ $\beta$ -CD: \*\*5  $\mu\text{M}$ ; \*\*\*10 e 50 $\mu\text{M}$ .
- Figura 98.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, quando as células são estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , na presença de diferentes concentrações de rutina livre (Rt) e complexada com a  $\beta$ -ciclodextrina (Rt/CD). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão das determinações em triplicata; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  em comparação com os controles. Rt : \*\*\* 50 $\mu\text{M}$ . Rt/ $\beta$ -CD: \*\*\*10 e 50  $\mu\text{M}$ .
- Figura 99.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, quando as células são estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , na presença de diferentes concentrações de ácido cafeíco (Cf) livre e complexado com a  $\beta$ -ciclodextrina (Cf/CD) Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão das determinações em triplicata; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  em comparação com os controles. Cf : \*0,5 $\mu\text{M}$  ; \*\*0,5, 5, 10 e 50  $\mu\text{M}$ .
- Figura 100.** Porcentagem de  $\beta$ -hexosaminidase liberada, quando as células são estimuladas pelo antígeno DNP-BSA, 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , na presença de diferentes concentrações de ácido dimetóxicinâmico (Dm) livre e complexado com a  $\beta$ -ciclodextrina (Dm/CD). Cada valor representa a média  $\pm$  desvio padrão das determinações em triplicata; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  em comparação com os controles. Dm: \*\*0,5, 1,5, 10 e 50  $\mu\text{M}$ . Dm/ $\beta$ -CD: \*\*0,02, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 5, 10 e 50  $\mu\text{M}$ .

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Substâncias isoladas e extratos de plantas cedidos por diferentes grupos de pesquisa em Produtos Naturais e empregados no estudo da atividade antialérgica.
- Tabela 2.** Parâmetro hidrofóbico ( $\log P$ ) dos flavonóides e ácidos polifenólicos estimados a partir de dados obtidos dos programas de simulação *TSAR* e *ChemDraw*.
- Tabela 3.** Valores dos coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) obtidos para a quercetina, rutina, ácido dimetóxi-cinâmico e ácido cafeico, em água, a 25 °C.
- Tabela 4.** Concentração de quercetina ( $Q_c$ ), rutina ( $R_t$ ), ácido dimetóxi-cinâmico ( $D_m$ ) e ácido cafeico ( $C_f$ ) solúveis no complexo de inclusão com a  $\beta$ -ciclodextrina, em meio aquoso, na temperatura de 25 °C.
- Tabela 5.** Solubilidade máxima da substância natural água ( $S_0$ ) em ausência de  $\beta$ -ciclodextrina, e constantes de incorporação ( $K_c$ ) para os complexos de inclusão das substâncias naturais na  $\beta$ -CD, obtidas a 30 °C.
- Tabela 6.** Absorbância dos flavonóides no ponto de saturação ( $A_s$ ) e coeficientes de absorvidade molar dos flavonóides no complexo de inclusão ( $\epsilon_c$ ).
- Tabela 7.** Picos endotérmicos das substâncias puras ( $Q_c$ ,  $R_t$ ,  $D_m$  e  $C_f$ ) e complexadas com a  $\beta$ -Ciclodextrina ( $Q_c/\beta$ -CD,  $R_t/\beta$ -CD,  $D_m/\beta$ -CD e  $C_f/\beta$ -CD).
- Tabela 8.** Picos endotérmicos referentes à calorimetria diferencial de varredura (DSC) das substâncias naturais livres ( $Q_c$ ,  $R_t$ ,  $D_m$  e  $C_f$ ) e complexadas com a  $\beta$ -Ciclodextrina ( $Q_c/\beta$ -CD,  $R_t/\beta$ -CD,  $D_m/\beta$ -CD e  $C_f/\beta$ -CD).
- Tabela 9.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da quercetina ( $Q_c$ ) livre e complexada com a  $\beta$ -CD.
- Tabela 10.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) livre e complexada com a quercetina ( $Q_c$ ).
- Tabela 11.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da rutina ( $R_t$ ) livre e complexada com a  $\beta$ -CD.
- Tabela 12.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) livre e complexada com a rutina ( $R_t$ ).

- Tabela 13.** Correlações observadas no mapa de contornos ROESY do complexo rutina (Rt):  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) ( $D_2O$ , 500 MHz).
- Tabela 14.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1H$  do ácido cafeico (Cf) livre e complexado com a  $\beta$ -CD.
- Tabela 15.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1H$  da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) livre e complexada com o ácido cafeico (Cf).
- Tabela 16.** Correlações observadas no mapa de contornos ROESY do complexo ácido cafeico (Cf): $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) ( $D_2O$ , 500 MHz).
- Tabela 17.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1H$  do ácido dimetoxicinâmico (DM) livre e complexado com a  $\beta$ -CD.
- Tabela 18.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) observados nos espectros de RMN  $^1H$  da  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) livre e complexada com o ácido dimetoxicinâmico (DM).
- Tabela 19.** Efeito inibidor de substâncias naturais, isoladas da família dos flavonóides, sobre a liberação da enzima  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 20.** Efeito inibidor de ácidos plifenólicos, da família dos flavonóides, sobre a liberação de  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 21.** Efeito inibidor de alcalóides, sobre a liberação de  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 22.** Efeito inibidor de terpenos, sobre a liberação de  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 23.** Efeito inibidor de iridóides, sobre a liberação de  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 24.** Efeito inibidor de extratos de plantas obtidos das partes aéreas (folhas e caules) de espécies *Bidens* (Asteraceae), sobre a liberação da enzima  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.
- Tabela 25.** Efeito inibidor de flavonóides livres, ou complexados com a  $\beta$ -ciclodextrina, sobre a liberação da  $\beta$ -hexosaminidase de mastócitos de ratos da linhagem RBL-2H3.



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD	Ciclodextrina
$\beta$ -CD	$\beta$ -Ciclodextrina
$A_s$	Absorbância no ponto de saturação
$A_0$	Absorbância na ausência de $\beta$ -ciclodextrina
MF	Mistura física
MEM	Meio Mínimo essencial
DMSO	Dimetilsulfóxido
FTIR	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
TG	Análise termogravimétrica
DTA	Análise Térmica Diferencial
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
$K_c$	Constante de estabilidade
$S_0$	Solubilidade máxima da substância natural na ausência de $\beta$ -ciclodextrina
$\epsilon$	Coefficiente de absorvidade molar
$\epsilon_c$	Coefficiente de absorvidade molar dos complexos de inclusão
ESIPT	Transferência de prótons intramolecular
$\log P$	Parâmetro de hidrofobicidade
SN	Substância Natural
SN/ $\beta$ -CD	Complexo de inclusão substância natural com a $\beta$ -ciclodextrina
IC <sub>50</sub>	Concentração da substância natural necessária para inibir 50% da enzima
MTT	brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

BSA	Soro Albumina Bovina
DNP	Dinitrofenil
anti-DNP-IgE	Anticorpo monoclonal específico para reconhecimento de dinitrofenil
RBL-2H3	Linhagem de células de mastócitos de ratos
IgE	Imunoglobulina E
FcεRI	Receptores de alta afinidade para IgE
MIRR	Receptores de reconhecimento imune multicadeia
ITAM	Segmento de ativação do receptor baseado na tirosina
PLC-γ	Fosfolipase-C
DAG	Diacilglicerol
PKC	Proteína quinase C
IP3	Inositol-1,4,5- trifosfato
Qc	Quercetina
Rt	Rutina
Qu-ga	3-O-β-D-galactopiranosilquercetina
Qu-Glic	3-O-β-D-glicopiranosilquercetina
Qu-gap	3-O-(6''- <i>trans</i> -cafeoil)-β-D-galactopiranosilquercetina
Qu-ara	3-O-α-L-arabinofuranosilquercetina
6-C-β -glic-luteolina	6-C-β -D-glicopiranosilluteolina
7-β-O-glic-luteolina	7-β-O-D-glicopiranosilluteolina
6-C-β-glic-luteolina	8-C-β-D-glicopiranosilluteolina
Gp-Qu	7-O-β-D-glicopiranosideo-quercetagenina
Cp-glic	Caempferol-3-O-glicosídeo

coumaroil-glic-Oka	4'-O-(6''- <i>trans-p</i> -coumaroil)- $\beta$ -D-glicopiranosil Okanina
Cf	Ácido cafeico
Dm	Ácido dimetoxicinâmico
DfDgNO	(-)-duguetina $\beta$ -N-óxido
DfDg	(-)-duguetina
Dfdic	Dicentriona
MpC Et	Extrato etanólico ( <i>Mikania parodii</i> Cabrera)
MpC AcOEt:MeOH	Fração eluída em acetato de etila e metanol ( <i>Mikania parodii</i> Cabrera)
MpB Et	Extrato etanólico ( <i>Mikania pilosa</i> Baker)
BsEt	Extrato etanólico ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsDcm	Fração diclorometano ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsMe	Fração metanólica ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsH	Fração hexânica ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsAcEt	Fração acetato de etila ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsAcp	Fração acetato de etila precipitado de metanol ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BsAcs	Fração acetato de etila-sobrenadante ( <i>Bidens sulphurea</i> )
BgEt	Extrato etanólico ( <i>Bidens gardineri</i> )
BgMe	Fração metanólica ( <i>Bidens gardineri</i> )
BgDcm	Fração diclorometano ( <i>Bidens gardineri</i> )
BgH	Fração hexânica ( <i>Bidens gardineri</i> )
BgAc	Fração acetato de etila ( <i>Bidens gardineri</i> )
DfAlc	Fração clorofórmica ( <i>Duguetina furfuracea</i> )
BgrEt	Extrato etanólico ( <i>Bidens graveolens</i> )

# **1. INTRODUÇÃO**

# 1. INTRODUÇÃO

Os mastócitos são células do sistema imune que desempenham um papel central em doenças alérgicas (FIELD *et al.*, 1996a; NAAL, 2004; HIRANO *et al.*, 2006). Estas células são apropriadas para o emprego em biossensores porque são robustas, estáveis, aderem em superfícies e conservam suas funções vitais por um período longo de tempo. Quando as mesmas são estimuladas por um antígeno, sofrem exocitose e liberam mediadores químicos de resposta alérgica incluindo a enzima  $\beta$ -hexosaminidase (JONSSON *et al.*, 2001; NAAL, 2004; OKA *et al.*, 2005; CARLOS *et al.*, 2006). O ensaio enzimático direto para quantificar a enzima  $\beta$ -hexosaminidase (NAAL, 2004) pode ser empregado como um sistema biossensor para monitorar a potencialidade de novas moléculas em bloquear a ativação e degranulação de mastócitos.

Os problemas decorrentes de doenças alérgicas, tais como asma, rinite, dermatite, alergia alimentar e outros vem se acentuando nos últimos anos e submetendo os indivíduos alérgicos à uma baixa qualidade de vida ou levando-os à morte (BELLANTI *et al.*, 2003; WATANABE *et al.*, 2004; WATANABE *et al.*, 2005; KOBAYASHI e TANABE, 2006; TEWTRAKUL e ITHARAT, 2006; TEWTRAKUL e SUBHADHIRASAKUL, 2007; GOULD e SUTTON, 2008; POLOSA, 2008; TEWTRAKUL *et al.*, 2008). Para a maioria das pessoas, as estratégias usadas para tratar os sintomas, ou prevenir a doença, tem se mostrado ineficientes e impraticáveis o que enfatiza a necessidade da descoberta de novos fármacos que possam intervir nas respostas imunológicas. Neste contexto, os produtos naturais desempenham um papel fundamental e tem sido alvo de considerável pesquisa na busca de novos agentes terapêuticos. Associado a esse fato, temos uma rica biodiversidade a ser explorada na qual pode estar a cura para muitas doenças incluindo as doenças alérgicas (COLLACO *et al.*, 2006; TEWTRAKUL e SUBHADHIRASAKUL, 2007; TEWTRAKUL *et al.*, 2008).

Algumas classes de produtos naturais são inibidores potentes da degranulação mastocitária. Entre estas classes podem ser citados os flavonóides (MIDDLETON e KANDASWAMI, 1992; MIDDLETON *et al.*, 2000; MASTUDA *et al.*, 2002; MATSUDA *et al.*, 2002; SHICHIJO *et al.*, 2003; YAMAMOTO *et al.*, 2004; KOBAYASHI e TANABE, 2006; TEWTRAKUL e SUBHADHIRASAKUL, 2007; TEWTRAKUL *et al.*,

2008) que são compostos polifenólicos naturalmente presentes em vegetais, frutas, sementes, nozes e bebidas (MIDDLETON e KANDASWAMI, 1992; TOKURA *et al.*, 2005). Muitas substâncias naturais são pouco solúveis em água, o que diminui a biodisponibilidade e absorção no organismo. A formação de complexos de inclusão destas substâncias com  $\beta$ -ciclodextrina pode amenizar estes problemas, ou seja, aumentar a biodisponibilidade e a eficiência de ensaios biológicos destinados a encontrar novos fármacos e novas alternativas para o tratamento de doenças alérgicas (CALABRO *et al.*, 2004; CALABRO *et al.*, 2005; GUZZO *et al.*, 2006; BANERJEE *et al.*, 2007; JULLIAN, C. *et al.*, 2007; LOFTSSON e DUCHENE, 2007; VIJAYA *et al.*, 2007; JULLIAN, MORALES-MONTECINOS *et al.*, 2008; JULLIAN, OROSTEGUIS *et al.*, 2008).

O modelo biossensor baseado em células do sistema imune (NAAL, 2004) pode ser empregado para monitorar a potencialidade de novas moléculas naturais, ou sintéticas, em bloquear a ativação e degranulação de mastócitos. Este ensaio pode ser conduzido em presença de substâncias naturais livres ou complexadas com a  $\beta$ -ciclodextrina. Assim, a sensibilidade dos mastócitos foi empregada para investigar a atividade antialérgica de substâncias naturais, isoladas de várias classes de plantas, tais como flavonóides, terpenóides e outros. Os flavonóides quercetina e rutina, bem como os ácidos polifenólicos, ácido cafeico e ácido dimetoxicinâmico, foram selecionados para a preparação de complexos de inclusão com a  $\beta$ -ciclodextrina afim de comparar a eficiência da atividade antialérgica destas substâncias na ausência e presença da  $\beta$ -CD.

## CONCLUSÕES

**I.** Os resultados obtidos para o estudo da atividade antialérgica das substâncias naturais testadas mostram, de modo geral, que há uma inibição considerável da liberação de  $\beta$ -hexosaminidase, com exceção do policarpol (terpeno), da 7-metil-glabranina (flavona) e do 3-*O*- $\alpha$ -L-ramnopiranosilquercetina. Os maiores efeitos inibidores foram observados para os flavonóides quercetina ( $IC_{50}$ = 5,1  $\mu$ M), 7-metil quercetina ( $IC_{50}$ = 4,8  $\mu$ M), caempferol-3-glicosídeo ( $IC_{50}$ = 7,4  $\mu$ M) e 4'-*O*-(6''-*trans-p*-cumaroil)- $\beta$ -D-glicopiranosil okanina ( $IC_{50}$ = 5,8  $\mu$ M) o que enfatiza a viabilidade de explorar estas estruturas em estudos de mecanismos de transdução de sinais em mastócitos.

**II.** Para a classe dos flavonóides, a mais investigada neste estudo, foi observado que a presença da hidroxila no carbono-3 do flavonóide é fundamental para um bom resultado de atividade antialérgica. No entanto, grupos glicosídicos contribuem para a redução da atividade, independente da posição na qual estão associados.

**III.** Para os extratos de diferentes espécies de plantas, a maior atividade antialérgica foi obtida para a fração acetato de etila da espécie *Bidens Sulphurea* ( $IC_{50}$ = 1,3  $\mu$ g/mL) a qual é rica em flavonóides mais polares. Por outro lado, a fração hexânica, cujas substâncias majoritárias são sesquiterpenos, causou um estímulo da liberação da  $\beta$ -hexosaminidase.

**IV.** A formação de complexos de inclusão dos flavonóides (quercetina e rutina) e ácidos polifenólicos (ácidos cafeico e dimetoxicinâmico) com a  $\beta$ -ciclodextrina ocorre de forma satisfatória com valores de constante de incorporação ( $K_c$ ) apropriados para a aplicação dos complexos de inclusão como agentes terapêuticos.

**V.** A eficiência do ensaio biológico e a atividade antialérgica são favorecidos pela formação dos complexos de inclusão com a  $\beta$ -CD e este efeito é mais significativo para as substâncias naturais que apresentam maior  $\log P$ , ou seja, maior hidrofobicidade.

## REFERÊNCIAS

ABEL, U., *et al.* Modern methods to produce natural-product libraries. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.6, n.4, AUG, p.453-458. 2002.

AGRAWAL, P. K. e R. P. RASTOGI. C-13 Nmr-Spectroscopy of Flavonoids. **Heterocycles**, v.16, n.12, p.2181-2236. 1981.

AICART, E. e E. JUNQUERA. Complex formation between purine derivatives and cyclodextrins: A fluorescence spectroscopy study. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.47, n.3-4, DEC, p.161-165. 2003.

AKETANI, S., *et al.* Correlation between cytosolic calcium concentration and degranulation in RBL-2H3 cells in the presence of various concentrations of antigen-specific IgEs. **Immunology Letters**, v.75, n.3, Jan 15, p.185-189. 2001.

AL-MARZOUQI, A. H., *et al.* Influence of the preparation method on the physicochemical properties of econazole-beta-cyclodextrin complexes. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.60, n.1-2, Feb, p.85-93. 2008.

ALEXANDRAKIS, M., *et al.* Differential effect of flavonoids on inhibition of secretion and accumulation of secretory granules in rat basophilic leukemia cells. **International Journal of Immunopharmacology**, v.21, n.6, Jun, p.379-390. 1999.

ALOISI, G. G., *et al.* Photophysical and photobiological behavior of antimalarial drugs in aqueous solutions. **Photochemistry and Photobiology**, v.79, n.3, MAR, p.248-258. 2004.

AMMAR, H. O., *et al.* Improvement of some pharmaceutical properties of drugs by cyclodextrin complexation .7. Trimethoprim. **Pharmazie**, v.52, n.5, MAY, p.376-379. 1997.

ANDREI, C. C., *et al.* New spirorotenoids from *Tephrosia candida*. **Zeitschrift Fur Naturforschung C-a Journal of Biosciences**, v.57, n.5-6, May-Jun, p.418-422. 2002.

ARAVANIS, A. M., *et al.* A genetically engineered cell-based biosensor for functional classification of agents. **Biosensors & Bioelectronics**, v.16, n.7-8, Sep, p.571-577. 2001.

ARCHONTAKI, H. A., *et al.* Study on the inclusion complexes of bromazepam with beta- and beta-hydroxypropyl-cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.28, n.3-4, May 15, p.761-769. 2002.

BAIRD, B., *et al.* Membrane structure and dynamics in IgE receptor signaling. **Biophysical Journal**, v.76, n.1, Jan, p.A31-A31. 1999.



BAKER, D. D. e K. A. ALVI. Small-molecule natural products: new structures, new activities. **Current Opinion in Biotechnology**, v.15, n.6, DEC, p.576-583. 2004.

BANERJEE, A., *et al.* Effect of beta-cyclodextrin nanocavity confinement on the photophysics of robinetin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, v.89, n.2-3, Dec 14, p.88-97. 2007.

\_\_\_\_\_. Interaction of 7-hydroxyflavone with human serum albumin: A spectroscopic study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology**, v.90, n.1, Jan 30, p.33-40. 2008.

\_\_\_\_\_. Encapsulation of Prodan in beta-cyclodextrin environments: A critical study via electronic spectroscopy and molecular mechanics. **Journal of Molecular Structure**, v.794, n.1-3, Aug 7, p.181-189. 2006.

BANERJEE, A. e P. K. SENGUPTA. Encapsulation of 3-hydroxyflavone and fisetin in beta-cyclodextrins: Excited state proton transfer fluorescence and molecular mechanics studies. **Chemical Physics Letters**, v.424, n.4-6, Jun 24, p.379-386. 2006.

BAROODY, F. M. Allergic rhinitis: Broader disease effects and implications for management. **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**, v.128, n.5, May, p.616-631. 2003.

BARSUMIAN, E. L., *et al.* Ige-Induced Histamine-Release from Rat Basophilic Leukemia-Cell Lines - Isolation of Releasing and Non-Releasing Clones. **European Journal of Immunology**, v.11, n.4, p.317-323. 1981.

\_\_\_\_\_. Ige-Mediated Histamine-Release from Rat Basophilic Leukemia Cell-Line - Isolation of Releasing and Non-Releasing Clones. **Federation Proceedings**, v.38, n.3, p.1019-1019. 1979.

\_\_\_\_\_. Isolation and Characterization of Mouse Mastocytoma Cell-Lines. **Federation Proceedings**, v.40, n.3, p.1023-1023. 1981.

BEAVEN, M. A. e R. A. BAUMGARTNER. Downstream signals initiated in mast cells by Fc epsilon RI and other receptors. **Current Opinion in Immunology**, v.8, n.6, DEC, p.766-772. 1996.

BELLANTI, J. A., *et al.* Developmental immunology: clinical application to allergy-immunology. **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, v.90, n.6, Jun, p.2-6. 2003.

BERGER, W. E. Overview of allergic rhinitis. **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, v.90, n.6, Jun, p.7-12. 2003.

BERGONZI, M. C., *et al.* Studies on the interactions between some flavonols and cyclodextrins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.17, n.21, Nov 1, p.5744-5748. 2007.

BERNINI, A., SPIGA, O., CIUTTI, A., SCARSELLI, M. BOTTONI, G., MASCAGNI, P. NICCOLAI, N. NMR studies of inclusion complex between  $\beta$ -cyclodextrin and paroxetine. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, p. 445-450, 2004.

BERRIDGE, M. J. Inositol Trisphosphate and Calcium Signaling. **Nature**, v.361, n.6410, Jan 28, p.315-325. 1993.

BODOR, N. Optimization of Drug Targeting by Cyclodextrins. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v.209, Apr 2, p.58-Cell. 1995.

BOLDI, A. M. Libraries from natural product-like scaffolds. **Current Opinion in Chemical Biology**, v.8, n.3, JUN, p.281-286. 2004.

BOUHAMIDI, R., *et al.* High protection by grape seed proanthocyanidins (GSPC) of polyunsaturated fatty acids against UV-C induced peroxidation. **Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Iii-Sciences De La Vie-Life Sciences**, v.321, n.1, Jan, p.31-38. 1998.

BREWSTER, M. E. e T. LOFTSSON. The use of chemically modified cyclodextrins in the development of formulations for chemical delivery systems. **Pharmazie**, v.57, n.2, FEB, p.94-101. 2002.

BREWSTER, M. E., *et al.* Applications of chemically-modified cyclodextrins: use of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin as an enabling excipient for brain targeting, redox-based derivatives of estradiol - A review of preclinical and clinical findings. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v.14, n.1, JAN-FEB, p.21-34. 2004.

BUSSE, W. W. Mechanisms and advances in allergic diseases. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.105, n.6, JUN, p.S593-S598. 2000.

BUSSE, W. W., *et al.* Flavonoid Modulation of Human Neutrophil Function. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.73, n.6, p.801-809. 1984.

BUTLER, M. S. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, v.67, n.12, DEC, p.2141-2153. 2004.

CALABRO, M. L., *et al.* Effects of alpha and beta-cyclodextrin complexation on the physico-chemical properties and antioxidant activity of some 3-hydroxyflavones. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.35, n.2, Apr 16, p.365-377. 2004.

\_\_\_\_\_. The rutin/beta-cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.36, n.5, Jan 4, p.1019-1027. 2005.

CAMBIER, J. C., *et al.* New Nomenclature for the Reth Motif (or Arh1/Tam/Aram/Yxxl). **Immunology Today**, v.16, n.2, FEB, p.110-110. 1995.

CARLOS, D., *et al.* Histamine modulates mast cell degranulation through an indirect mechanism in a model IgE-mediated reaction. **European Journal of Immunology**, v.36, n.6, Jun, p.1494-1503. 2006.

CASAGRANDE, F. e J. M. DARBON. Effects of structurally related flavonoids on cell cycle progression of human melanoma cells: regulation of cyclin- dependent kinases CDK2 and CDK1. **Biochemical Pharmacology**, v.61, n.10, May 15, p.1205-1215. 2001.

CHALLA, R., *et al.* Cyclodextrins in drug delivery: An updated review. **Aaps Pharmscitech**, v.6, n.2, p.-. 2005.

CHEONG, H., *et al.* Anti-allergic action of resveratrol and related hydroxystilbenes. **Planta Medica**, v.65, n.3, Apr, p.266-268. 1999.

COLLACO, C. R., *et al.* Effect of sodium sulfite on mast cell degranulation and oxidant stress. **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, v.96, n.4, Apr, p.550-556. 2006.

CURTIS, T., *et al.* Development of a mast cell-based biosensor. **Biosensors & Bioelectronics**, v.23, n.7, Feb 28, p.1024-1031. 2008.

CUSTOVIC, A., *et al.* Controlling indoor allergens. **Annals of Allergy Asthma & Immunology**, v.88, n.5, MAY, p.432-441. 2002.

DA SILVA, D. B., *et al.* Isolation and cytotoxicity evaluation of some oxoaporphine alkaloids from Annonaceae. **Quimica Nova**, v.30, n.8, p.1809-1812. 2007.

DEMO, S. D., *et al.* Quantitative measurement of mast cell degranulation using a novel flow cytometric annexin-V binding assay. **Cytometry**, v.36, n.4, Aug 1, p.340-348. 1999.

DIVAKAR, S. e M. M. MAHESWARAN. Structural studies on inclusion compounds of beta-cyclodextrin with some substituted phenols. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry**, v.27, n.2, Feb, p.113-126. 1997.

DJEDAINI, F., *et al.* High-Field Nuclear-Magnetic-Resonance Techniques for the Investigation of a Beta-Cyclodextrin-Indomethacin Inclusion Complex. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.79, n.7, Jul, p.643-646. 1990.

DJEDAINI, F. e B. PERLY. Organic Shift-Reagents for the Nmr Analysis of Cyclodextrins. **Journal of Molecular Structure**, v.239, Oct, p.161-166. 1990.

DOS SANTOS, A. R., *et al.* Polar constituents of the leaves of *Machaonia brasiliensis* (Rubiaceae). **Quimica Nova**, v.27, n.4, Jul-Aug, p.525-527. 2004.

DURICK, K. e P. NEGULESCU. Cellular biosensors for drug discovery. **Biosensors & Bioelectronics**, v.16, n.7-8, Sep, p.587-592. 2001.

EISEMAN, E. e J. B. BOLEN. Engagement of the High-Affinity Ige Receptor Activates Src Protein-Related Tyrosine Kinases. **Nature**, v.355, n.6355, JAN 2, p.78-80. 1992.

FALKOVSKAIA, E., *et al.* Photophysical induction of dual fluorescence of quercetin and related hydroxyflavones upon intermolecular H-bonding to solvent matrix. **Chemical Physics Letters**, v.297, n.1-2, Nov 20, p.109-114. 1998.

FEWTRELL, C. M. S. e B. D. GOMPERS. Quercetin - Novel Inhibitor of Ca<sup>2+</sup> Influx and Exocytosis in Rat Peritoneal Mast-Cells. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v.469, n.1, p.52-60. 1977.

FICARRA, R., *et al.* Study of the inclusion complex of atenolol with beta-cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.23, n.1, AUG 1, p.231-236. 2000.

\_\_\_\_\_. Study of flavonoids/beta-cyclodextrins inclusion complexes by NMR, FT-IR, DSC, X-ray investigation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.29, n.6, AUG 1, p.1005-1014. 2002.

FIELD, K. A., *et al.* High affinity IGE receptor signaling in detergent-resistant plasma membrane domains. **Molecular Biology of the Cell**, v.7, Dec, p.1589-1589. 1996a.

\_\_\_\_\_. Tyrosine phosphorylation of Fc epsilon RI follows aggregation- dependent association of the IgE-receptor complex with detergent resistant membrane domains. **Faseb Journal**, v.10, n.6, Apr 30, p.1244-1244. 1996b.

FISCHER, M. J. E. e N. J. DE MOL. Mechanism of action of the nonlipophilic antiallergic drug eclazolast (REV 2871) in the inhibition of mediator release in a mast cell model. **Inflammation Research**, v.48, n.11, Nov, p.569-574. 1999.

FUNES, M., *et al.* Comparative study of the photophysical behavior of fisetin in homogeneous media and in anionic and cationic reverse micelles media. **Photochemistry and Photobiology**, v.83, n.3, May-Jun, p.486-493. 2007.

GABER, M., *et al.* Spectral properties and inclusion of a hetero-chalcone analogue in organized media of micellar solutions and beta-cyclodextrin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v.7, n.2, p.257-262. 2008.

GASPAR, A. R. M. D., *et al.* The Influence of the Sesquiterpene Lactones from Geigeria on Mast-Cell Degranulation. **Biochemical Pharmacology**, v.36, n.15, AUG 1, p.2461-2465. 1987.

GIORDANO, F., *et al.* Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. **Thermochimica Acta**, v.380, n.2, Dec 14, p.123-151. 2001.

GOBBO-NETO, L., *et al.* Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of di-C-glucosylflavones from *Lychnophora ericoides* (Asteraceae). **Planta Medica**, v.71, n.1, Jan, p.3-6. 2005.

GONZALEZ, A. G. J., J. L. V.; IGEA, S. A.; ESPINAR, F. J. O.; MÉNDEZ, J. B. A proton nuclear magnetic resonance study of the inclusion complex of naproxen with  $\beta$ -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v.106, p.179-185. 1994.

GOSSE, J. A., *et al.* Real-time spatiotemporal dynamics of antigen stimulated IgE receptor signaling in mast cells. **Biophysical Journal**, v.82, n.1, Jan, p.222a-222a. 2002.

\_\_\_\_\_. Chimeric receptors to determine structural aspects of lipid raft dependence of immunoreceptor signaling. **Molecular Biology of the Cell**, v.13, Nov, p.81a-81a. 2002.

GOULD, H. J. e B. J. SUTTON. IgE in allergy and asthma today. **Nature Reviews Immunology**, v.8, n.3, Mar, p.205-217. 2008.

GRANBERG, M., *et al.* Effects of the cannabimimetic fatty acid derivatives 2-arachidonoylglycerol, anandamide, palmitoylethanolamide and methanandamide upon IgE-dependent antigen-induced beta-hexosaminidase, serotonin and TNF alpha release from rat RBL-2H3 basophilic leukaemia cells. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v.364, n.1, Jul, p.66-73. 2001.

GREENSPAN, H. C. e O. ARUOMA. Could Oxidative Stress Initiate Programmed Cell-Death in Hiv-Infection - a Role for Plant-Derived Metabolites Having Synergistic Antioxidant Activity (Vol 91, Pg 187, 1994). **Chemico-Biological Interactions**, v.93, n.2, Nov, p.173-173. 1994.

GREENSPAN, H. C. e O. I. ARUOMA. Oxidative Stress and Apoptosis in Hiv-Infection - a Role for Plant-Derived Metabolites with Synergistic Antioxidant Activity. **Immunology Today**, v.15, n.5, May, p.209-213. 1994.

GUZZO, M. R., *et al.* Study of the complexation of fisetin with cyclodextrins. **Journal of Physical Chemistry A**, v.110, n.36, Sep 14, p.10545-10551. 2006.

HAIYUN, D., *et al.* Preparation and spectral investigation on inclusion complex of  $\beta$ -cyclodextrin with rutin. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.59, p.3421-3429. 2003.

HANSCH, C., *et al.* Searching for allosteric effects via QSARs. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.9, n.2, Feb, p.283-289. 2001.

HANSCH, C. L., A.; HOEKMAN, D. Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants. **ACS, Washington**. 1995.

HAIYUN, D., JIANBIN, C., GUOMEI, Z., SHAOMIN, S., JINHAO, P. Preparation and spectral investigation on inclusion complex of  $\beta$ -cyclodextrin with rutin, **Spectrochimica Acta Part A**, v. 59, p. 3421-3429, 2003.

HEIM, K. E., *et al.* Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.13, n.10, Oct, p.572-584. 2002.

HIGUCHI, T. e J. L. LACH. Study of Possible Complex Formation between Macromolecules and Certain Pharmaceuticals .3. Interaction of Polyethylene Glycols with Several Organic Acids. **Journal of the American Pharmaceutical Association-Scientific Edition**, v.43, n.8, p.465-470. 1954.

HIGUCHI, T. A. C., K. A. Phase solubility techniques in advances in analytical chemistry and instrumentation. **New York: Interscience Publishers**, p.117-212. 1965.

HIRANO, T., *et al.* Luteolin, a flavonoid, inhibits AP-1 activation by basophils. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.340, n.1, Feb 3, p.1-7. 2006.

HOFFMANN, A., *et al.* Determination of the allergenic activity of birch pollen and apple prick test solutions by measurement of beta- hexosaminidase release from RBL-2H(3) cells. Comparison with classical methods in allergen standardization. **Allergy**, v.54, n.5, May, p.446-454. 1999.

HOLGATE, S. T. e R. POLOSA. The mechanisms, diagnosis, and management of severe asthma in adults. **Lancet**, v.368, n.9537, Aug-Sep, p.780-793. 2006.

HOLLOWKA, D. e B. BAIRD. Antigen-mediated IgE receptor aggregation and signaling: A window on cell surface structure and dynamics. **Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure**, v.25, p.79-112. 1996.

HOLLOWKA, D. e H. METZGER. Further characterization of the beta-component of the receptor for immunoglobulin E. **Molecular immunology**, v.19, p.219-227. 1982.

HOLLOWKA, D., *et al.* Insights into immunoglobulin E receptor signaling from structurally defined ligands. **Immunological Reviews**, v.217, Jun, p.269-279. 2007.

IRIE, T. e K. UEKAMA. Pharmaceutical applications of cyclodextrins .3. Toxicological issues and safety evaluation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.86, n.2, Feb, p.147-162. 1997.

JONSSON, J. I., *et al.* Distinct and regulated expression of Notch receptors in hematopoietic lineages and during myeloid differentiation. **European Journal of Immunology**, v.31, n.11, Nov, p.3240-3247. 2001.

JOVANOVIC, S. V., *et al.* Flavonoids as Antioxidants. **Journal of the American Chemical Society**, v.116, n.11, Jun 1, p.4846-4851. 1994.

JULLIAN, C., *et al.* Studies of inclusion complexes of natural and modified cyclodextrin with (+)catechin by NMR and molecular modeling. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, n.9, May 1, p.3217-3224. 2007.

\_\_\_\_\_. Characterization, phase-solubility, and molecular modeling of inclusion complex of 5-nitroindazole derivative with cyclodextrins. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, n.9, May 1, p.5078-5084. 2008.

\_\_\_\_\_. Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: An antioxidant study. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.67, July, p.230-234. 2007.

\_\_\_\_\_. Complexation of morin with three kinds of cyclodextrin - A thermodynamic and reactivity study. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.71, n.1, Nov 1, p.269-275. 2008.

KALE, R., *et al.* Decreased B16F10 melanoma growth and impaired tumour vascularization in BDF1 mice with quercetin-cyclodextrin binary system. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.58, n.10, Oct, p.1351-1358. 2006.

KAROL, M. H. Respiratory allergy: what are the uncertainties? **Toxicology**, v.181-182, p.305-310. 2002.

KAWA, T., *et al.* The role of the hypothalamic nitric oxide in the pressor responses elicited by acute environmental stress in awake rats (vol 71, pg 1429, 2002). **Life Sciences**, v.72, n.21, Apr 11, p.2427-2428. 2003.

KAWAKAMI, T. e S. J. GALLI. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. **Nature Reviews Immunology**, v.2, n.10, OCT, p.773-786. 2002.

KEEGAN, A. D. e W. E. PAUL. Multichain Immune Recognition Receptors - Similarities in Structure and Signaling Pathways. **Immunology Today**, v.13, n.2, FEB, p.63-68. 1992.

KINGSTON, D. G. I. e D. J. NEWMAN. Mother nature's combinatorial libraries; their influence on the synthesis of drugs. **Current Opinion in Drug Discovery & Development**, v.5, n.2, MAR, p.304-316. 2002.

KOBAYASHI, S. e S. TANABE. Evaluation of the anti-allergic activity of Citrus unshiu using rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells as well as basophils of patients with seasonal allergic rhinitis to pollen. **International Journal of Molecular Medicine**, v.17, n.3, Mar, p.511-515. 2006.

KOVAROVA, M. e J. RIVERA. A molecular understanding of mast cell activation and the promise of anti-allergic therapeutics. **Current Medicinal Chemistry**, v.11, n.15, AUG, p.2083-2091. 2004.

KUBINYI, H. QSAR: Hansch analysis and related approaches. 1993.

KURKELA, M., *et al.* Microplate screening assay to identify inhibitors of human catechol-O-methyltransferase. **Analytical Biochemistry**, v.331, n.1, AUG 1, p.198-200. 2004.

LEUNG, D. Y. M. Immunologic basis of chronic allergic diseases: Clinical messages from the laboratory bench. **Pediatric Research**, v.42, n.5, Nov, p.559-568. 1997.

\_\_\_\_\_. Molecular basis of allergic diseases. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.63, n.3, Mar, p.157-167. 1998.

LIN, S. Q., *et al.* The Fc epsilon RI beta subunit functions as an amplifier of Fc epsilon RI gamma-mediated cell activation signals. **Cell**, v.85, n.7, JUN 28, p.985-995. 1996.

LIU, W. Y. e R. GUO. Interaction between flavonoid, quercetin and surfactant aggregates with different charges. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.302, n.2, Oct 15, p.625-632. 2006a.

\_\_\_\_\_. Interaction of flavonoid, quercetin with organized molecular assemblies of nonionic surfactant. **Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects**, v.274, n.1-3, Feb 15, p.192-199. 2006b.

LOFTSSON, T. Increasing the cyclodextrin complexation of drugs and drug bioavailability through addition of water-soluble polymers. **Pharmazie**, v.53, n.11, NOV, p.733-740. 1998.

LOFTSSON, T. e M. E. BREWSTER. Pharmaceutical applications of cyclodextrins .1. Drug solubilization and stabilization. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.85, n.10, OCT, p.1017-1025. 1996.

LOFTSSON, T. e D. DUCHENE. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v.329, n.1-2, Feb 1, p.1-11. 2007.

LOFTSSON, T., *et al.* Self-association and cyclodextrin solubilization of drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.91, n.11, NOV, p.2307-2316. 2002.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de indentificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. n.2. ed. 1998.

LUCAS-ABELLAN, C., *et al.* Encapsulation of quercetin and myricetin in cyclodextrins at acidic pH. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.1, Jan 9, p.255-259. 2008a.

\_\_\_\_\_. Complexation of resveratrol by native and modified cyclodextrins: Determination of complexation constant by enzymatic, solubility and fluorimetric assays. **Food Chemistry**, v.111, n.1, Nov 1, p.262-267. 2008b.



MABRY, T. J., MARKHAN, M. B. AND THOMAS, M. B. **The Systematic Identification of Flavonoids**. New York: Springer-Verlag. 1970

MASSON, M. e T. LOFTSSON. Drug-cyclodextrin complexation in the presence of water soluble polymers: Enhanced solubility and percutaneous transport. **Abstracts of Papers of the American Chemical Society**, v.216, AUG 23, p.U334-U335. 1998.

MASTUDA, H., *et al.* Structural requirements of flavonoids for inhibition of antigen-induced degranulation, TNF-alpha and IL-4 production from RBL-2H3 cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.10, n.10, Oct, p.3123-3128. 2002.

MATSUDA, H., *et al.* Antiallergic phenanthrenes and stilbenes from tubers of *Gymnadenia conopsea*. **Planta Medica**, v.70, n.9, SEP, p.847-855. 2004.

\_\_\_\_\_. Anti-allergic principles from Thai zedoary: structural requirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNF-alpha and IL-4 in RBL-2H3 cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.12, n.22, Nov 15, p.5891-5898. 2004.

\_\_\_\_\_. Anti-allergic activity of stilbenes from Korean rhubarb (*Rheum undulatum* L.): structure requirements for inhibition of antigen-induced degranulation and their effects on the release of TNF-alpha and IL-4 in RBL-2H3 cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.12, n.18, SEP 15, p.4871-4876. 2004.

\_\_\_\_\_. Anti-allergic effects of *Cnidii Monnieri Fructus* (Dried fruits of *Cnidium monnieri*) and its major component, osthol. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.25, n.6, JUN, p.809-812. 2002.

MCCORMACK, T. K., G.; KILLARD, A.; MANNING B. M.; O'KENNEDY, R. Biomaterial of Biosensors. In: **Diamond, D. (Ed.), Principles of Chemical and Biological Sensors**. Wiley, New York, NY, p.178-183. 1998.

MENAGE, H. D., *et al.* Sesquiterpene lactone mix contact sensitivity and its relationship to chronic actinic dermatitis: a follow-up study. **Contact Dermatitis**, v.39, n.3, SEP, p.119-122. 1998.

MIDDLETON, E. The Flavonoids. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.5, n.8, p.335-338. 1984.

MIDDLETON, E. e C. KANDASWAMI. Effects of Flavonoids on Immune and Inflammatory Cell Functions. **Biochemical Pharmacology**, v.43, n.6, Mar 17, p.1167-1179. 1992.

MIDDLETON, E., *et al.* The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, v.52, n.4, DEC, p.673-751. 2000.

MONTI, S., *et al.* Structure and photochemical behavior of the cyclodextrin inclusion complexes of the benzoylthiophene-derived drugs tiaprofenic acid (=5-benzoyl-alpha-methylthiophene-2-acetic acid) and suprofen (=alpha-methyl-4-(2-thienylcarbonyl)benzeneacetic acid). **Helvetica Chimica Acta**, v.84, n.9, p.2452-2466. 2001.

MONTI, S. e S. SORTINO. Photoprocesses of photosensitizing drugs within cyclodextrin cavities. **Chemical Society Reviews**, v.31, n.5, SEP, p.287-300. 2002.

MORIKAWA, T., *et al.* Absolute stereostructures of three new sesquiterpenes from the fruit of *Alpinia oxyphylla* with inhibitory effects on nitric oxide production and degranulation in RBL-2H3 cells. **Journal of Natural Products**, v.65, n.10, OCT, p.1468-1474. 2002.

\_\_\_\_\_. Bioactive constituents from Chinese natural medicines. XIV. New glycosides of beta-carboline-type alkaloid, neolignan, and phenylpropanoid from *Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* and their antiallergic activities. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.52, n.10, OCT, p.1194-1199. 2004.

\_\_\_\_\_. Medicinal foodstuffs. XXXI. Structures of new aromatic constituents and inhibitors of degranulation in RBL-2H3 cells from a Japanese folk medicine, the stem bark of *Acer nikoense*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.51, n.1, JAN, p.62-67. 2003.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival - Application to Proliferation and Cyto-Toxicity Assays. **Journal of Immunological Methods**, v.65, n.1-2, p.55-63. 1983.

NAAL, R. M. Z. G., *et al.* Antigen-stimulated trafficking from the recycling compartment to the plasma membrane in RBL mast cells. **Traffic**, v.4, n.3, Mar, p.190-200. 2003.

NAAL, R. M. Z. G., TABB, J.; HOLOWKA, D. AND BAIRD, B. In situ measurement of degranulation as a biosensor based on RBL-2H3 mast cells. **Biosensors and Bioelectronics**, v.20, n.4. 2004.

NADLER, M. J. S., *et al.* Signal transduction by the high-affinity immunoglobulin E receptor Fc epsilon RI: Coupling form to function. **Advances in Immunology**, Vol. 76, v.76, p.325-355. 2001.

OHTANI, Y., *et al.* Differential-Effects of Alpha-Cyclodextrins, Beta-Cyclodextrins and Gamma-Cyclodextrins on Human-Erythrocytes. **European Journal of Biochemistry**, v.186, n.1-2, Dec 1, p.17-22. 1989.

OKA, T., *et al.* Microtubule disruption suppresses allergic response through the inhibition of calcium influx in the mast cell degranulation pathway. **Journal of Immunology**, v.174, n.8, Apr 15, p.4584-4589. 2005.

ORGANERO, J. A., *et al.* Complexation effect of gamma-cyclodextrin on a hydroxyflavone derivative: Formation of excluded and included anions. **Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry**, v.188, n.1, Apr 30, p.74-82. 2007.

PANCRAZIO, J. J., *et al.* Development and application of cell-based biosensors. **Annals of Biomedical Engineering**, v.27, n.6, Nov-Dec, p.697-711. 1999.

PAOLINI, R., *et al.* Phosphorylation and Dephosphorylation of the High-Affinity Receptor for Immunoglobulin-E Immediately after Receptor Engagement and Disengagement. **Nature**, v.353, n.6347, OCT 31, p.855-858. 1991.

PARDO-ABREU, G.L., SÁNCHEZ-BALDOQUÍN, C., ÁVILA-GONZÁLEZ, R., YAMAMOTO, E.T., REVILLA, A., UYIEMURA, S.A., NALL, Z., A., CURTI, C. Interaction of Vimang (*Mangifera indica* L. extract) with Fe(III) improves its antioxidant and cytoprotecting activity. **Pharmacological Research**, v. 54, p. 389-395, 2006.

PARK, K. H., *et al.* Antiallergic activity of a disaccharide isolated from *Sanguisorba officinalis*. **Phytotherapy Research**, v.18, n.8, AUG, p.658-662. 2004.

PERDOMO-LOPEZ, I., *et al.* Effect of cyclodextrins on the solubility and antimycotic activity of sertaconazole: Experimental and computational studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.91, n.11, Nov, p.2408-2415. 2002.

PINTO, A. C., SILVA, D. H. S., BOLZANI, V. S., LOPES, N. P., EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, v.25, n.S1, p.173-189. 2002.

POLOSA, S. T. H. A. R. Treatment strategies for allergy and asthma. **Nature Reviews Immunology**, v.8, n.3, Mar, p.218-230. 2008.

PRALHAD, T. e K. RAJENDRAKUMAR. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.34, n.2, Feb 4, p.333-339. 2004.

PRIBLUDA, V. S., *et al.* Transphosphorylation as the Mechanism by Which the High-Affinity Receptor for Ige Is Phosphorylated Upon Aggregation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.91, n.23, NOV 8, p.11246-11250. 1994.

PUGLISI, G., *et al.* Preparation and physico-chemical study of inclusion complexes between idebenone and modified beta-cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular Recognition in Chemistry**, v.24, n.3, p.193-210. 1996.

RAJENDRAKUMAR, K., *et al.* Cyclodextrin complexes of valdecoxib: properties and anti-inflammatory activity in rat. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.60, n.1, May, p.39-46. 2005.

RAJEWSKI, R. A. e V. J. STELLA. Pharmaceutical applications of cyclodextrins .2. In vivo drug delivery. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.85, n.11, Nov, p.1142-1169. 1996.

RICEEVANS, C. A., *et al.* Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, v.2, n.4, Apr, p.152-159. 1997.

\_\_\_\_\_. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v.20, n.7, p.933-956. 1996.

SALVATIERRA, D., JAIME, C., SNCHEZ-FERRADO, F. Determination of the inclusion geometry for the  $\beta$ -cyclodextrin/benzoic acid complex by NMR and molecular modeling. **Journal of Organic Chemistry**, v. 61, p. 9578, 1996.

SAINZ-ROZAS, P. R., *et al.* Effects of natural cyclodextrins on the photophysical properties of dibenzofuran-2-carboxylic acid. **Journal of Physical Chemistry A**, v.108, n.3, JAN 22, p.392-402. 2004.

SANTOS, M., *et al.* Anti-inflammatory and analgesic activities of chlorogenic acid. **Faseb Journal**, v.19, n.4, Mar 4, p.A444-A444. 2005.

SAÚDE, M. D. Secretaria Nacional de Ações Básicas de Saúde, Estatística de Mortalidade, 2000. 2000.

SHELLER, F. W., *et al.* Research and development in biosensors. **Current Opinion in Biotechnology**, v.12, n.1, Feb, p.35-40. 2001.

SCHNEIDER, H. J., *et al.* NMR studies of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Chemical Reviews**, v.98, n.5, Jul-Aug, p.1755-1785. 1998.

SCHWARTZ, L. B., *et al.* Immunological Release of Beta-Hexosaminidase and Beta-Glucuronidase from Purified Rat Serosal Mast-Cells. **Journal of Immunology**, v.123, n.4, p.1445-1450. 1979.

SCHWINGEL, L., *et al.* Association of 3-O-methylquercetin with beta-cyclodextrin: complex preparation, characterization and ex vivo skin permeation studies. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.62, n.1-2, Oct, p.149-159. 2008.

SEREBRIISKII, I. G. e E. A. GOLEMIS. Uses of lacZ to study gene function: Evaluation of beta- galactosidase assays employed in the yeast two-hybrid system. **Analytical Biochemistry**, v.285, n.1, Oct 1, p.1-15. 2000.

SHICHIJO, M., *et al.* Inhibition of Syk activity and degranulation of human mast cells by flavonoids. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.26, n.12, Dec, p.1685-1690. 2003.

SIMS, C. E. e N. L. ALLBRITTON. Single-cell kinase assays: opening a window onto cell behavior. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, n.1, Feb, p.23-28. 2003.

STALIN, T., *et al.* Spectral characteristics of ortho, meta and para dihydroxy benzenes in different solvents, pH and beta-cyclodextrin. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.61, n.11-12, Sep, p.2495-2504. 2005.

STALIN, T. e N. RAJENDIRAN. Effects of solvent, pH and beta-cyclodextrin on the photophysical properties of 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyde: intramolecular charge transfer associated with hydrogen bonding effect. **Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.61, n.13-14, Oct, p.3087-3096. 2005.

STANCANELLI, R., *et al.* The enhancement of isoflavones water solubility by complexation with modified cyclodextrins: A spectroscopic investigation with implications in the pharmaceutical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.44, n.4, Aug 15, p.980-984. 2007.

STELLA, V. J. e R. A. RAJEWSKI. Cyclodextrins: Their future in drug formulation and delivery. **Pharmaceutical Research**, v.14, n.5, May, p.556-567. 1997.

STENGER, D. A., *et al.* Detection of physiologically active compounds using cell-based biosensors. **Trends in Biotechnology**, v.19, n.8, Aug, p.304-309. 2001.

SUBRAMANIAN, K., *et al.* The Fc segment of IgE influences the kinetics of dissociation of a symmetrical bivalent ligand from cyclic dimeric complexes. **Biochemistry**, v.35, n.17, Apr 30, p.5518-5527. 1996.

TAUROG, J. D., *et al.* Ige Mediated Triggering of Rat Basophil Leukemia-Cells - Lack of Evidence for Serine Esterase Activation. **Journal of Immunology**, v.122, n.6, p.2150-2153. 1979.

TEWTRAKUL, S. e A. ITHARAT. Anti-allergic substances from the rhizomes of *Dioscorea membranacea*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.14, n.24, Dec 15, p.8707-8711. 2006.

TEWTRAKUL, S. e S. SUBHADHIRASAKUL. Anti-allergic activity of some selected plants in the Zingiberaceae family. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.3, Feb 12, p.535-538. 2007.

TEWTRAKUL, S., *et al.* Anti-allergic activity of compounds from *Kaempferia parviflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.116, n.1, Feb 28, p.191-193. 2008.

TOKURA, T., *et al.* Inhibitory effect of polyphenol-enriched apple extracts on mast cell degranulation in vitro targeting the binding between IgE and Fc epsilon RI. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.69, n.10, Oct, p.1974-1977. 2005.

TOMMASINI, S., *et al.* Comparative photodegradation studies on 3-hydroxyflavone: influence of different media, pH and light sources. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.35, n.2, APR 16, p.389-397. 2004.

\_\_\_\_\_. Combined effect of pH and polysorbates with cyclodextrins on solubilization of naringenin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.36, n.2, Oct 29, p.327-333. 2004.

\_\_\_\_\_. The inclusion complexes of hesperetin and its 7-rhamnoglucoside with (2-hydroxypropyl)-beta-cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.39, n.3-4, Sep 15, p.572-580. 2005.

\_\_\_\_\_. Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with beta-cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.35, n.2, Apr 16, p.379-387. 2004.

UEKAMA, K. e M. OTAGIRI. Cyclodextrins in Drug Carrier Systems. **Crc Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v.3, n.1, p.1-40. 1987.

VENTURA, C. A., *et al.* A physico-chemical study on the interaction between papaverine and natural and modified beta-cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v.160, n.2, Jan 26, p.163-172. 1998.

VIJAYA, K., *et al.* Preparation and characterization of quercetin and rutin cyclodextrin inclusion complexes. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.33, n.3, Mar, p.245-253. 2007.

WANG, J. H. e Z. S. CAI. Investigation of inclusion complex of miconazole nitrate with beta-cyclodextrin. **Carbohydrate Polymers**, v.72, n.2, May 5, p.255-260. 2008.

WATANABE, J., *et al.* Coumarin and flavone derivatives from estragon and thyme as inhibitors of chemical mediator release from RBL-2H3 cells. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.69, n.1, Jan, p.1-6. 2005.

\_\_\_\_\_. The production of hypoallergenic wheat flour and the analysis of its allergy suppressive effects. **Biofactors**, v.22, n.1-4, p.295-297. 2004.

WATANABE, Y., *et al.* Absorption Enhancement of Polypeptide Drugs by Cyclodextrins .1. Enhanced Rectal Absorption of Insulin from Hollow-Type Suppositories Containing Insulin and Cyclodextrins in Rabbits. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.40, n.11, Nov, p.3042-3047. 1992.

WEETALL, M., *et al.* Heterologous Desensitization of the High-Affinity Receptor for Ige (Fc-Epsilon-R1) on Rbl Cells. **Journal of Immunology**, v.150, n.9, May 1, p.4072-4083. 1993.

WERMUTH, C. G. The practice of medicinal chemistry. **Academic Press: San Diego**. 2000.

WU, J. B., *et al.* Biologically Active Constituents of *Centipeda minima*: Sesquiterpenes of Potential Anti-allergy Activity. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v.39, n.12, p.3272-3275. 1991.

XU, K., *et al.* Stimulated release of fluorescently labeled IgE fragments that efficiently accumulate in secretory granules after endocytosis in RBL-2H3 mast cells. **Journal of Cell Science**, v.111, Aug, p.2385-2396. 1998.

YAMAMOTO, T., *et al.* Anti-allergic activity of naringenin chalcone from a tomato skin extract. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.68, n.8, Aug, p.1706-1711. 2004.

YANG, Y. e L. X. SONG. Study on the inclusion compounds of eugenol with alpha-, beta-, gamma- and heptakis (2,6-di-O-methyl)-beta-cyclodextrins. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.53, n.1-2, Oct, p.27-33. 2005.

ZHENG, Y., *et al.* Physicochemical and structural characterization of quercetin-beta-cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.94, n.5, May, p.1079-1089. 2005.

ZHU, X. L., *et al.* Preparation and characterization of inclusion complex of iprodione and beta-cyclodextrin to improve fungicidal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.9, May 2, p.3535-3539. 2007.