



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Campus Macaé  
Curso de Farmácia



Gênero *Vitex* como fonte de substâncias analgésicas: enfoque na espécie *Vitex polygama* no tratamento de dor neuropática induzida por vincristina.

Amanda Botelho de Castro

Macaé

Junho de 2016

Amanda Botelho de Castro

Gênero *Vitex* como fonte de substâncias analgésicas: enfoque na espécie *Vitex polygama* no tratamento de dor neuropática induzida por vincristina.

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Campus Macaé como requisito para conclusão do curso.

Orientador: André Gustavo Calvano Bonavita

Macaé

Junho/2016

“O impossível é apenas uma grande palavra usada por gente fraca, que prefere viver no mundo como ele está, em vez de usar o poder que tem para mudá-lo, melhorá-lo. Impossível não é um fato. É uma opinião. Impossível não é uma declaração. É um desafio. Impossível é hipotético. Impossível é temporário. O impossível não existe.”

Muhammad Ali

Dedico este trabalho

Ao meu saudoso pai Nelson Monteiro de Castro, e minha saudosa avó Maria Luzia de Oliveira Botelho.

## Agradecimentos

A minha mãe, Alba, por sempre primar pela minha educação e meus sonhos. Obrigada por me oferecer a oportunidade de estudar e por estar sempre presente;

A minha querida e já saudosa avó, por todo amor e preocupação;

Ao meu eterno melhor amigo, meu pai, Nelson, o qual eu não me canso de prestar homenagens, pelas grandes conquistas que alcançou deixando a mim e aos meus irmãos um exemplo de amor e dedicação a ser seguido.

Aos meus irmãos, Felipe e Nathália, por me apoiarem incondicionalmente, e por acreditarem no meu potencial e por terem agregado mais dois irmãos, Marina e Raphael, que compartilham com vocês esses sentimentos. Vocês são essenciais na minha vida;

A minha tia Márcia, meu Tio Renato e meus primos Leonardo e Bernardo, por toda amizade e companheirismo que sempre que precisei, encontrei em vocês;

Aos meus padrinhos, Tia Rita e Tio Cal, pela ajuda nos momentos que mais precisei. Sem vocês nada disso seria possível;

As minhas tias Aparecida e Ieda, que sempre estiveram presente para me oferecer algo para somar na minha vida, fosse uma palavra amiga ou um “puxão” de orelha, assim como as que partiram antes no meio da minha caminhada Sirley e Léa.

A minha afilhada, Maria Sofia, por alegrar até os dias mais difíceis, e aos seus pais, Daniele e Luciano;

Aos meus primos queridos Roselane, João Carlos, João Vitor, Junior e minha pequena e amada Maria Clara, por cuidarem de mim, principalmente nas idas e vindas de Macaé;

As minhas Tchecas e minha Ohana, que estiveram presentes todos os dias, durante esses cinco anos, e fizeram o papel da minha família na falta deles;

Aos melhores amigos que a vida poderia me dar: Arthur, George, Juliana e Renata, por toda a força e todo o companheirismo de vocês;

Ao meu querido orientador André Bonavita, por toda a paciência e disponibilidade;

A professora Michelle Frazão e ao LPBio, por disponibilizar os extratos que foram testados.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema da estrutura de um nociceptor .....	11
Figura 2: Esquema da estrutura da via de condução de dor pelo trato espinotalâmico. ....	14
Figura 3: Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, localizado na Região Norte Fluminense. ....	24
Figura 4: Esquema de tratamento com vincristina e extratos em ratos <i>Wistar</i> . ....	30
Figura 5: Ilustração de teste de placa quente. ....	31
Figura 6: Diagrama de fluxo para a seleção de artigos para o estudo. ....	32
Figura 7: Distribuição percentual (%) de artigos por espécie vegetal. ....	33
Figura 8: Distribuição de artigos por tipo de estudo realizado. ....	33
Figura 9: Cinética de indução de dor induzida por vincristina. ....	37
Figura 10: Efeito do extrato bruto de <i>V. polygama</i> em modelo de dor neuropática induzida por vincristina.....	38
Figura 11: Efeito da fração butanólica do extrato de <i>V. polygama</i> em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. ....	40
Figura 12: Efeito da fração hexânica do extrato de <i>V. polygama</i> em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. ....	40
Figura 13: Efeito da fração aquosa do extrato de <i>V. polygama</i> em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. ....	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de dor neuropática e tecido nervoso associado .....	20
Tabela 2: Artigos que documentam os efeitos analgésicos de extratos de plantas do gênero <i>Vitex</i> em modelos em animais e estudos com humanos ...	37

## LISTA DE ABREVIACOES

- AcOET - Acetato de Etila
- AINES – Anti-inflamatório (s) não esteroideal (is)
- ANOVA – Análise de variância
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATP – Adenosina trifosfato
- AVC – Acidente vascular cerebral
- BuOH - Butanol
- CCS – Centro de Ciências e Saúde
- CEUA - Comissão de tica no Uso de Animais
- CGRP – peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
- DCM – Diclorometano
- DMSO – Dimetilsulfóxido
- EVP - Extrato bruto hidroalcoólico
- GABA – cido gama-aminobutírico
- HEX - Hexano
- HIV – Vírus da imunodeficiência humana
- i.p. – Intraperitoneal
- IASP – Associao Internacional para o Estudo da Dor
- ICMBio - Instituto Chico Mendes de Conservao da Biodiversidade
- LIP – Laboratório Integrado de Pesquisa
- NMDA - N-Metil-D-Aspartato
- p/V – Peso/Volume
- PA – Padrão Analitico
- PARNA Jurubatiba – Parque Nacional de Restinga de Jurubatiba
- RDC – Resoluo de Diretoria Colegiada
- SBED - Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor
- SISBIO – Sistema de Autorizao e Informao em Biodiversidade
- SNC – Sistema nervoso central
- SP – Substância P
- WDR – Neurônios de ampla faixa dinâmica

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	11
1.1 Dor .....	11
1.1.1 Mecanismos da dor .....	13
1.1.2 Tipos de dor .....	18
1.1.2.1 Dor Neuropática .....	19
1.2 Tratamentos farmacológicos atuais .....	22
1.3 Produtos Naturais .....	24
1.4 Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba .....	26
1.5 Gênero <i>Vitex</i> .....	27
2. Justificativa .....	29
3. Objetivos .....	30
3.1 Objetivo geral .....	30
3.2 Objetivos específicos .....	30
4. Materiais e Métodos .....	31
4.1 Revisão sistemática .....	31
4.1.1 Critérios de inclusão e exclusão .....	31
4.2 Coleta de material e preparo de extratos .....	31
4.3 Animais .....	32
4.4 Modelo de dor neuropática .....	32
4.5 Teste de placa quente .....	33
4.6 Tratamento .....	34
4.7 Análise Estatística .....	34
5. Resultados e Discussão .....	35
5.1 Revisão sistemática .....	35
5.1.1 Características dos estudos incluídos .....	36
5.2 Etnofarmacologia e evidências sobre as plantas medicinais da família <i>Vitex</i> que apresentam atividade analgésica .....	38
5.2.1 <i>Vitex agnus-castus</i> .....	38
5.2.2 <i>Vitex cymosa</i> .....	39
5.2.3 <i>Vitex negundo</i> .....	39
5.2.4 <i>Vitex rotundifolia</i> .....	39
5.3 Resultados experimentais .....	40
5.3.1 Indução de dor neuropática .....	40
5.3.2 Tratamento com extrato e as frações de <i>Vitex polygama</i> ..	40
6. Conclusão .....	45
7. Referências Bibliográficas .....	46



## Resumo

A dor é definida como uma experiência sensorial desagradável associada a um dano tecidual real ou potencial. Ela pode ser classificada em dor aguda, que é caracterizada pelo aparecimento repentino e por ser facilmente tratada; e dor crônica, que tem duração maior e terapêutica complexa. A dor crônica é denominada neuropática quando decorrente de uma lesão de nervo ou conjunto de nervos levando a uma hiperatividade anormal dos neurônios nociceptivos. Atualmente, o tratamento farmacológico para dor neuropática se mostra ineficiente ou gerando diversos efeitos adversos. Estudos com produtos naturais tem mostrado papel importante dessas substâncias em diversas patologias, inclusive o uso como analgésicos. Na região norte-fluminense está localizada o PARNA de Jurubatiba que apresenta rica flora e diversas espécies tem sido estudadas quanto a suas propriedades farmacológicas, com destaque a espécie *Vitex polygama* membro da família Laminacea a qual possui diversas espécies utilizadas para fins medicinais. O presente estudo teve como objetivos revisar sistematicamente a literatura a respeito das propriedades analgésicas do gênero *Vitex* bem como identificar possível efeito analgésico do extrato bruto de *Vitex polygama* e suas frações em modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos. Para revisão de literatura foram utilizado os bancos de dados PubMed, SCIELO e LILACS cruzando as palavras-chave: dor ou “pain” e *Vitex*. Após análise inicial dos resumos, com a exclusão de artigos duplicados e de revisão e ainda os que não contemplavam o tema foram selecionados um total de 14 artigos, dos quais 11 tratavam de dor aguda e 3 em estudos de dor crônica. Não foi encontrado nenhum trabalho que contemplasse a espécie *Vitex polygama*. Em um segundo momento, avaliamos a propriedade analgésica da espécie *Vitex polygama* e suas frações utilizando o modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos. Para tal, ratas *Wistar*, pesando entre 180-250g, foram tratadas intraperitonealmente (*ip*) em dois ciclos de 5 dias com vincristina (0,1g/kg/dia) e então colocados sobre uma placa quente (51,5°C ± 0,5°C) onde foi cronometrado o tempo de retirada da pata esquerda traseira. Todos os animais tratados com vincristina apresentavam dor com do tempo de retirada da pata de 4,0±1 s comparado aos animais controle (8,0±1 s). Os animais submetidos aos ciclos de vincristina

foram então divididos em grupos que receberam tratamento (10mg/kg ip) com extrato bruto de *Vitex polygama* ou suas frações butanólica, hexânica ou aquosa diluídos em DMSO (0,1%). Após tratamento os animais foram colocados na placa quente e avaliado o efeito analgésico das amostras no período de 1 a 24 horas após administração das mesmas. Identificamos que tanto o extrato bruto de *Vitex polygama* assim como as frações butanólica, hexânica e aquosa apresentavam capacidade de inibir de forma significativa a dor induzida por vincristina. Dessa forma, concluímos que o gênero *Vitex* apresenta atividade analgésica tanto em modelos de dor aguda quanto crônica e demonstramos pela primeira vez que a espécie *Vitex polygama* e suas frações apresentam atividade analgésica em modelo de dor neuropática sendo possível fonte de obtenção de novas substâncias analgésicas no tratamento de dor crônica.

**Palavras-chave:** *Vitex*, dor neuropática, vincristina, produtos naturais.

## 1. Introdução

### 1.1 Dor

A Associação Internacional para Estudos de Dor define a dor como uma “experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual real ou potencial”, ou seja, nem sempre é necessário que ocorra uma lesão, uma perturbação psicológica como estresse, raiva ou ansiedade também pode desencadear o fenômeno (MERSKEY & BOGDUK, 1994; BIDARRA, 2010). É considerada uma função sensorial essencial para a sobrevivência, uma vez que seu objetivo é proteger a área afetada, e sua intensidade varia de acordo com o grau do dano sofrido (CAILLIET, 2000).

Faz-se importante o conhecimento dos componentes da dor, para que se entenda a causa e os mecanismos da mesma. Dentre esses componentes está a nocicepção (detecção da lesão), a percepção da dor (pode ser ativada por uma lesão ou diretamente no sistema nervoso central), comportamentos da dor (tudo aquilo que o indivíduo faz ou não, e que pode ser atribuído a uma lesão) e o sofrimento (considerado mais que dor, uma resposta negativa associada à dor e a estados psicológicos como o estresse, a raiva, a ansiedade e etc.). As vertentes biofisiológicas, bioquímicas, psicossociais e comportamentais/morais envolvidas no fenômeno da dor, mostram que para adequado diagnóstico e terapêutica da mesma, é necessário haver multidisciplinaridade como base (CONIAM & DIAMOND, 1997).

Nos anos 60, John Bonica, médico anestesista, enfatizava *“como sempre, o tratamento da dor permanece uma das mais importantes preocupações da sociedade, e uma preocupação específica da comunidade científica e dos profissionais da saúde. Esta importância deriva do fato de que dor, seja aguda ou crônica, aflige milhões de pessoas anualmente; e em muitos pacientes com dores crônicas, e uma significativa parcela daqueles com dor aguda, ela é inadequadamente aliviada. Como consequência, a dor é a mais frequente causa de sofrimento e incapacidade que compromete seriamente a qualidade de vida de milhões de pessoas ao redor do mundo. Nos EUA, 15 a 20% da população têm dor aguda, e entre 25 e 30% dor crônica”* (BONICA & LOESER, 2001).

Um terço das consultas médicas no Brasil ocorre graças à dor e está presente em aproximadamente 70% dos pacientes que procuram atendimento por outros motivos (ROCHA, 2007). Estima-se que no Brasil e outros países de 10-50% dos indivíduos procuram clínicas-gerais por causa da dor (TURCK et al., 2001; JACOBSSON, 1989). Segundo a Sociedade Brasileira para o Estudo da Dor (SBED), que é a representação Brasileira da *International Association for the Study of Pain* (IASP), a importância da questão da dor no Brasil pode ser confirmada graças ao crescente número de artigos e reportagens em jornais, revistas rádio e televisão com o tema dor, podendo se apresentar de diversas formas, dor aguda, crônica, cefaléias, lombalgias, fibromialgia, dores orofaciais. A dor pode ainda ser de leve a severa e com características diferentes, podendo ser puntiforme, como uma queimação ou surda (geralmente difícil de descrever; não é forte e nem aguda, define-se como uma dor cansada). Pode ocorrer superficialmente, profundamente, localizada ou difusa (onde não há um limite definido), além de ser aguda ou crônica (NETO, 2009).

A compreensão do fenômeno da dor é uma preocupação desde o início dos tempos. Com o passar dos anos, sua definição médica evoluiu de um modelo sensitivo para um psicogênico (BIDARRA, 2010). No século XVII, Descartes sugeriu que a dor era causada graças a impulsos nervosos resultantes de estímulos periféricos noxios, percorrendo algumas vias até chegar à glândula pineal. Já para os filósofos Platão e Aristóteles, a dor era como uma sensação oposta ao prazer (BONICA, 1990). No século XX, Sherrington propõe então que a dor tinha componentes sensoriais e afetivos, porém todas essas teorias começaram a ser desacreditadas em 1959, quando Noordenbos sugeriu a existência de pequenas fibras nervosas que percorriam o corno da medula espinhal e chegavam até o cérebro, e essas eram capazes de causar a dor quando estimuladas (BIDARRA, 2010)

Em seguida, diversos outros modelos surgiram para explicar a dor, como o modelo motivacional, onde a dor era associada a fingimento e intensificação dos sintomas, o modelo do condicionamento operante, que é referente a dor associada aos mecanismos de reforço positivo e negativo, o modelo do condicionamento respondente, onde supõe-se que um estímulo nociceptivo é

acompanhado por outro neutro, que mais tarde irá produzir dor. Além desses, surgiu o modelo de aprendizagem social, que sugere que as pessoas adquirem comportamentos de dor através da observação e cópia de um exemplo (BOLANDER, 1998).

### **1.1.1 Mecanismos da dor**

Atualmente, sabe-se que a lesão tecidual ou qualquer estímulo que possa causar lesão, ativa células receptoras denominadas de nociceptores que desencadeiam a resposta de dor (SAPETA, 2000). Existem várias possibilidades que explicam como isso ocorre. A primeira possibilidade é de que os nociceptores individuais são sensíveis a todos os tipos de estímulo, e dessa forma, todos seriam ativados quando ocorresse estimulação. A outra é que os nociceptores são ativados por estímulos diferentes, sendo cada tipo de nociceptor sensível a um estímulo específico. Sabe-se que na natureza é possível encontrar os dois tipos de receptores, os específicos e os não específicos (polimodais).

Os nociceptores são neurônios aferentes primários, que podem ser ativados por estímulos térmicos, mecânicos e químicos, apresentam um limiar relativamente elevado para serem ativados, como o calor intenso do fogo que é capaz de gerar o potencial de ação que irá ativá-los. Estão presentes em diversos tecidos e seu limiar de ativação é maior que o dos demais receptores (FANTONI et al., 2002; TREEDE, 1995). A transdução sensorial dos nociceptores foi estabelecida da seguinte maneira: em uma região especializada da célula o estímulo é detectado, esse causa uma alteração conformacional no receptor em nível molecular, que inicia o processo de transdução e leva a uma mudança do potencial de membrana na célula receptora. Essa mudança é chamada de potencial de receptor. Geralmente existe uma distância entre a parte da célula onde ocorre a transdução sensorial e o terminal sináptico e, por isso, o potencial de receptor precisa ser convertido em uma série de potenciais de ação propagados, onde o sinal é carregado ao longo do axônio até chegar à sinapse (Figura1) (FEIN, 2011).

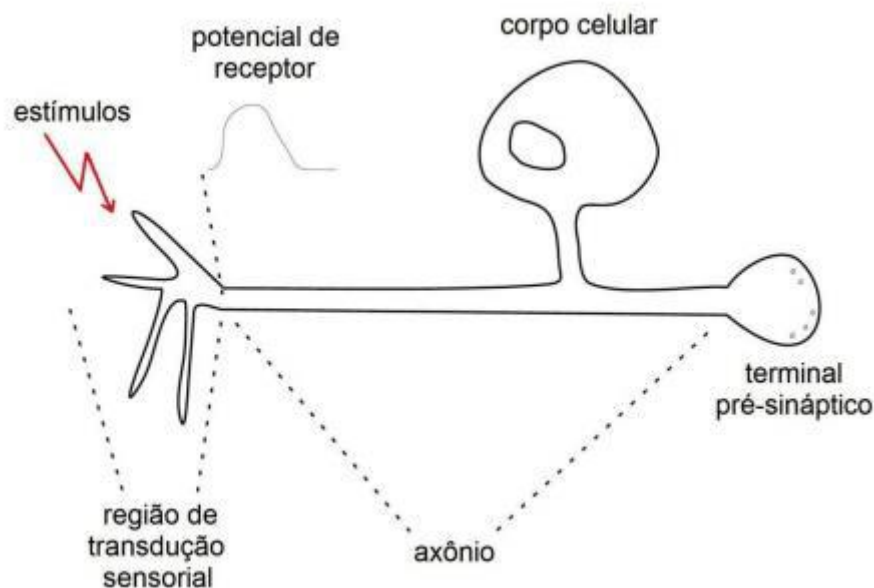


Figura 1 – Esquema da estrutura de um nociceptor. A região de transdução de sinal é responsável pela captura de estímulos dolorosos que propaga ao longo do axônio por meio de potenciais de ação até atingir o terminal pré-sináptico que irá propagar a informação para outros neurônios até atingir o sistema nervoso central (adaptado de FEIN, 2011)

O processamento da informação do estímulo nocivo na pele ou em outros órgãos diferencia a dor em fisiológica ou patológica (FANTONI et al., 2002; ALMEIDA et al., 2006). Muitas estruturas participam da percepção dolorosa, que ocorre de forma organizada até chegar ao sistema nervoso central. Entre o sítio ativo do tecido lesado e a percepção da dor, existe uma série de eventos que em conjunto formam a nocicepção. São 4 processos (KLAUMANN, 2008): i) a transdução: processo onde o estímulo é convertido em potencial de ação em nível de receptor; ii) a transmissão: processo onde ocorre a propagação do potencial de ação de forma centrípeta e ascendente através das vias do sistema nervoso periférico e do sistema nervoso central; iii) a modulação ou antinocicepção: processo em que a transmissão está atenuada em diferentes níveis; iv) a percepção: processo final onde a dor é percebida.

Os nociceptores estão localizados em diversos órgãos como a pele, músculos, articulações, vísceras e vasos (JULIUS et al., 2001) que são ativados por diversos estímulos, como por exemplo os da inflamação, que é um processo onde ocorre liberação de mediadores químicos como bradicinina, histamina, prótons, serotonina, substância P (SP), ATP e  $K^+$ . Esses mediadores

causam alteração na permeabilidade da membrana da fibra, gerando potencial de ação (GRIFFIS et al., 2006). FURST & BALDO (1999) dizem que a dor pode ser dividida em dois estágios, o primeiro se dá com a nocicepção (transdução do estímulo). No segundo estágio ocorre o processamento elaborado dessa informação nociceptiva, que faz com que a dor ocorra.

O  $K^+$  liberado pelas células após a lesão despolariza os terminais nervosos, fazendo com que os nociceptores fiquem mais responsivos a ação dos mediadores liberados (bradicinina, serotonina e prostaglandinas) no processo inflamatório. Em seguida ocorre a liberação de SP, responsável pela degranulação de mastócitos que, conseqüentemente libera histamina (que contribui para a sensibilização dos nociceptores) e peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP) (RAFF e LEVITZKY, 2012). Como consequência dessa cascata de eventos, ocorre então a propagação do sinal nociceptivo graças a geração de potenciais de ação.

A nocicepção se dá através de uma cadeia de três neurônios, onde o de primeira ordem é originário na periferia e se projetam para a medula espinhal; o de segunda ordem ascende pela medula e o neurônio de terceira ordem se projeta para o córtex cerebral (MESSLINGER, 1997). Segundo Djouhri & Lawson (2004), as fibras aferentes de primeira ordem, podem ser de três tipos: fibras de pequeno diâmetro, amielinizadas, e com velocidade de condução inferior a 2 m/s (fibras C); fibras com um diâmetro médio, discretamente mielinizadas, com velocidade de condução superior a primeira (25-50 m/s), são as fibras  $A\delta$ ; por último as fibras de grande diâmetro, altamente mielinizadas e elevada velocidade de condução, são as fibras  $A\beta$  e  $A\alpha$ . Participam da nocicepção aproximadamente 20% das fibras  $A\beta$  e  $A\alpha$ , e a maioria das fibras C e das fibras  $A\delta$  (FURST, 1999). Quando não ocorre dano tecidual ou nervoso, as fibras  $A\beta$  processam as informações referentes ao estímulo inócua, e a informação nociceptiva é transmitida pelas fibras  $A\delta$  e C.

O córtex cerebral é a área responsável pelo processamento dos impulsos nociceptivos levados pelas fibras  $A\delta$  e C, porém isso ocorre em diferentes janelas de tempo (FORSS et al., 2005). As fibras aferentes nociceptivas terminam no corno dorsal da medula, o qual pode ser dividido em seis lâminas

de acordo com as características de seus neurônios.(TRANQUILLI, 2004; PISERA, 2005; DREWES, 2006). Encontram-se nas lâminas I, II e V os neurônios nociceptivos (ALMEIDA et al., 2004). Três tipos de neurônios localizados no corno dorsal da medula são indispensáveis para o processamento da informação nociceptiva, são os interneurônios (excitatórios ou inibitórios), neurônios proprioespinhas (atingem várias partes da medula e estão envolvidos com a resposta reflexa) e os neurônios de projeção ou WDR (envolvidos na transmissão rostral da medula até o mesencéfalo e o córtex) ((MILLAN, 1999; LAMONT & TRANQUILLI, 2000; DREWES, 2006).

Existem alguns mediadores químicos e neurotransmissores que são responsáveis pela comunicação da informação nociceptiva entre os neurônios: podem ser aminoácidos excitatórios (glutamato e aspartato) e inibitórios (ácido gama-aminobutírico [GABA] e glicina), além de neuropeptídeos, como a SP e o CGRP que potencializam a sensibilização na via nociceptiva. A colecistocinina também exerce papel importante nessa comunicação graças a sua capacidade de modulação da ação dos aminoácidos excitatórios e os peptídeos opióides (encefalinas e endorfinas) que bloqueiam a ação da substância P, por exemplo, fazendo com que a dor seja diminuída (LAMONT & TRANQUILLI, 2000; RYGH et al., 2005; CORAZZIARI et al., 2012)

A informação gerada após o dano tecidual é conduzida por neurônios de projeção por cinco vias ascendentes principais: 1) trato espinotalâmico (figura 2) é composto por neurônios nociceptivos específicos e axônios de neurônios de projeção que se projetam até o tálamo; 2) trato espinoreticular onde os neurônios que terminam na formação reticular ascendem até o tálamo; 3) trato espinomesencefálico, no qual os neurônios estão projetados até a formação reticular mesencefálica; 4) trato espinocervical, onde suas fibras fazem uma conexão sináptica até o tálamo através do trato cervicotalâmico; 5) trato espinohipotálâmico, no qual os axônios projetam-se diretamente no hipotálamo, participando nas respostas neuroendócrinas e autonômicas induzidas pela dor (LAMONT & TRANQUILLI, 2000; PISERA, 2005; KLAUMANN, 2008).



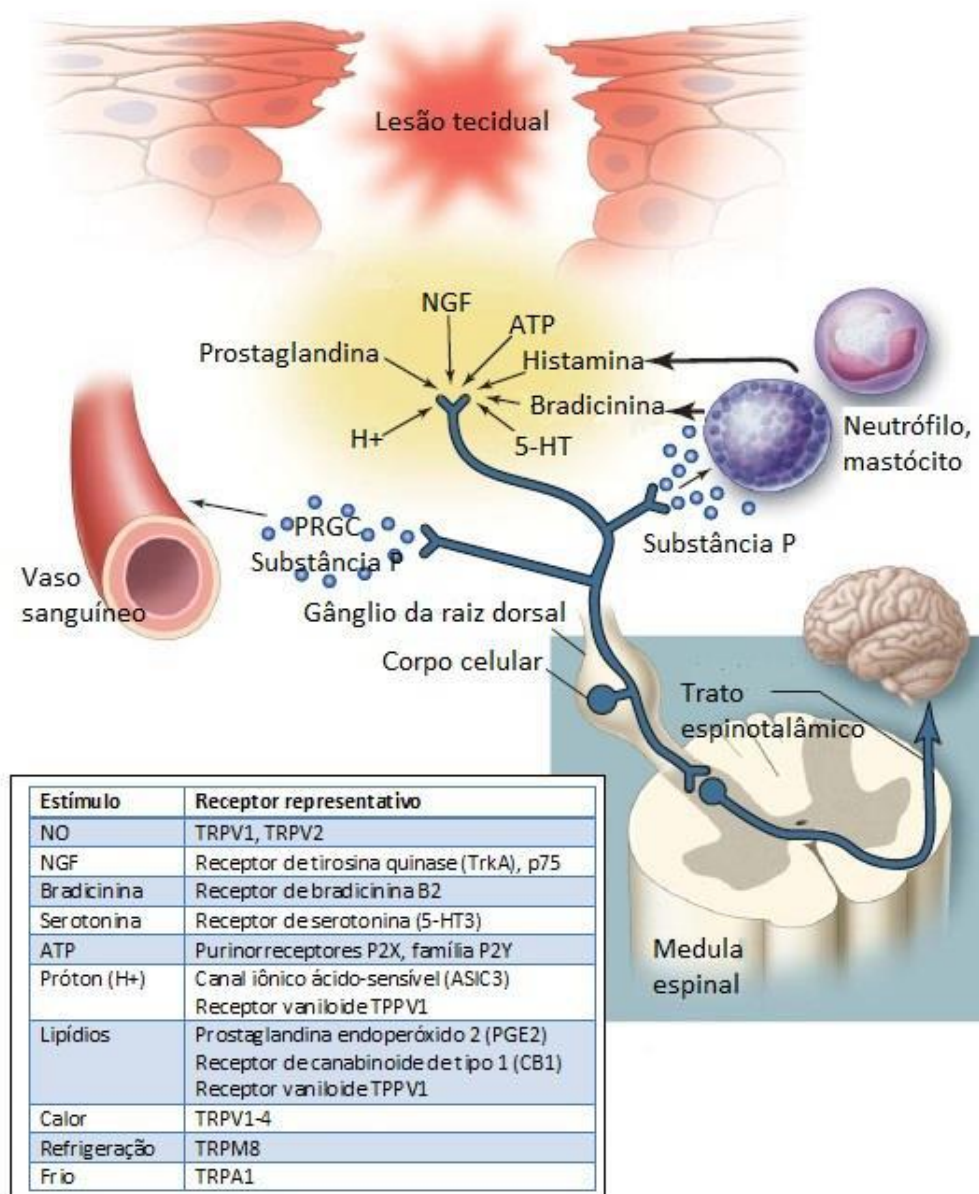


Figura 2 – Esquema da estrutura da via de condução de dor pelo trato espinotalâmico. Representa ainda os mediadores químicos que ativam a inflamação tecidual, associados ao processo de dor (adaptado de SANN, 1998).

Através das vias descendentes ocorre o bloqueio da dor, e é necessário que ocorra uma inibição dos neurônios nociceptivos da medula espinal através da excitação de neurônios serotoninérgicos e noradrenérgicos. Quando ocorre a ativação desses neurônios, eles descem até o corno dorsal da medula e realizam conexões inibitórias com neurônios localizados nas lâminas I, II e V, consequentemente diminuindo a resposta a dor (PISERA, 2005).

Ao longo de todo o SNC, receptores NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e opióides estão presentes para realizar a modulação nociceptiva. Os subtipos de receptores opióides que participam de modulação da dor são  $\mu$  e  $\delta$ , que podem inibir ou potencializar tais eventos. Além desses, existe também o receptor  $\kappa$ , que apresentam padrão de resposta antagônica aos mediados pelos receptores NMDA (RIEDEL & NEECK, 2001). Existem várias possibilidades de processamento fisiopatológico da dor aguda e crônica. Por esse motivo ela é dividida em quatro tipos: dor nociceptiva, dor inflamatória, dor neuropática e dor funcional. Uma conscientização sobre os tipos de dor existentes faz com que novos tratamentos sejam criados, através do conhecimento de novos alvos terapêuticos (NETO, 2009).

### **1.1.2 Tipos de Dor**

WOOF (2004) diz que a dor pode ser dividida em dois grandes grupos: adaptativa e não-adaptativa. A dor considerada adaptativa é caracterizada por preservar a integridade do organismo, servindo como proteção para grandes lesões ou para cicatrização de lesões ocorridas. Já a não-adaptativa é considerada uma expressão do sistema somatossensorial, ou seja, não está necessariamente ligada a um estímulo. Essa última é uma expressão nítida de anormalidade no processamento do sinal doloroso, e pode ocorrer em diferentes níveis do sistema nervoso periférico ou central.

Encontra-se na literatura referências a diversos tipos de dor. A dor aguda caracteriza-se pelo aparecimento repentino, apresenta uma duração finita, pode ser facilmente controlada e algumas vezes podem ser evitadas, os tratamentos costumam ser efetivos e a resposta comportamental é mais ou menos evidente e é compreendida pelo doente. Pode-se dizer que a dor aguda serve como um modelo biomédico, interpretada como um sintoma. Já a dor crônica apresenta uma duração superior a seis meses, seu início ocorre de forma gradual e não é possível ser detectada previamente e é inconstante. A causa da dor crônica, geralmente, é de difícil remoção, e envolve fatores psicológicos. Esse tipo de dor reúne o conceito de dor total e por isso é considerada um modelo biopsicossocial (CONIAM & DIAMOND, 1997 ; CONIAM & DIAMOND, 1999).

Quando há estimulação direta nos nociceptores intactos, com ativação dos mediadores inflamatórios e com transmissão de estímulo pelas vias fisiológicas da dor, ocorre a dor nociceptiva, que pode ser superficial, com origem na pele ou tecidos, ou profunda, quando se origina em ossos, articulações e músculos, pode ser visceral, quando a origem é no trato gastrointestinal e pâncreas (BIDARRA, 2010). A dor inflamatória está associada a uma lesão acompanhada de um processo inflamatório. Ela é considerada uma transição entre a dor adaptativa e a não-adaptativa. Nesse caso, a dor ocorre graças ao estímulo de mediadores inflamatórios como macrófagos, mastócitos células endoteliais ou nervos periféricos lesados (NETO, 2009). A dor psicogênica é uma dor que não tem base física para ser explicada, ela é resultado de uma alteração do processamento da dor nas áreas superiores do sistema nervoso central (MACKAY, 1999)

A dor funcional ocorre devido a um mau funcionamento do sistema somatossensorial. Nesse caso não existe nenhum estímulo nocivo e nem processo inflamatório identificável. O motivo da dor funcional ainda não está claro, o que faz com que haja uma persistência da doença (COSTIGAN, 2009). Em algumas doenças como fibromialgia, síndrome do intestino irritável, cistite intersticial, a dor parece resultar de uma amplificação autônoma de sinais nociceptivos dentro do sistema nervoso central (NIELSEN et al., 2008, STAUD & RODRIGUEZ, 2006). Síndromes de dor funcional compartilham algumas características com a dor neuropática como limiar de dor reduzido e acúmulo progressivo de dor em resposta a estímulos repetitivos (STAUD et al., 2007).

#### **1.1.2.1 Dor Neuropática**

A dor neuropática é definida como um tipo de dor relacionada como uma consequência de disfunção dos nervos periféricos, ocasionada por uma lesão ou doença do sistema somestésico, que pode ser causada por um trauma mecânico, doenças metabólicas, produtos químicos neurotóxicos, infecção ou invasão tumoral. (DWORKIN et al., 2003; SCHESTATSKY, 2008; AKKURT et al, 2015). É um tipo de dor não adaptativa, resultado de uma lesão com componente neuronal. Ela acomete principalmente indivíduos portadores de doenças crônicas, como o diabetes, câncer, lúpus, portadores do Vírus da

imunodeficiência humana, entre outras (NETO, 2009). Trata-se de uma síndrome com mecanismos pouco esclarecidos, e existem diversas teorias inflamatórias e imunes para explicá-la (KRAYCHETE, 2008)

Trata-se de uma complicação tardia das doenças mencionadas anteriormente que, apesar de uma elevada prevalência e um impacto relevante sobre a qualidade de vida, apenas na última década com o aumento da disponibilidade de novos fármacos para o tratamento da dor neuropática é que uma maior atenção começou a ser dada a esse problema. A doença acomete principalmente pacientes que possuem *diabetes mellitus*, fazendo com que os diabéticos sejam o maior alvo na busca de novos fármacos analgésicos eficientes para a dor neuropática (DAVIES et al., 2006; GORE et al., 2007; O'CONNOR & DWORKIN, 2009; TESFAYE, 2011; ZIEGLER et al., 2011; SPALLONE et al., 2011). A Tabela 1 mostra outras causas comuns de dor neuropática periférica e central.

Tabela 1 – Exemplos de dor neuropática e tecido nervoso associado (adaptado de BENNET, 2006)

Topografia da dor	Estrutura	Exemplos
Sistema nervoso periférico	Nervo	Neuropatia diabética
		Neuralgia do trigêmeo
		Síndrome da dor regional complexa tipos I e II
		Neuropatia induzida por infiltração tumoral
		Neuropatia por compressão nervosa crônica (p. Ex. Síndrome do túnel do carpo)
	Raiz dorsal	Neuralgia pós-herpética
		Avulsão traumática de plexo braquial
Sistema nervoso central	Cérebro	Pós – AVE (acidente vascular encefálico)
		Esclerose Múltipla
	Medula espinhal	Trauma medular
		Isquemia Medular

Uma recente pesquisa sobre os mecanismos da dor neuropática mostra que a lesão do nervo leva a mudanças dramáticas no sistema nervoso, o que

diferencia de outros tipos de dor crônica que possuem o sistema nociceptivo intacto. Para o diagnóstico da dor neuropática deve-se analisar as anormalidades somatossensoriais. Os pacientes acometidos pela doença quase sempre tem áreas de sensação anormal, que pode ser um hipersensibilidade ou um déficit sensorial. Normalmente os pacientes relatam hipersensibilidade mecânica e térmica (TJOLSEN & HOLE, 1993; LAMONT & TRANQUILLI, 2000; JI e STRICHARTZ, 2004; SCHAIBLE, 2006).

Até o momento, as pesquisas demonstram que para o desenvolvimento da dor neuropática é necessário que ocorra uma lesão nas vias aferentes. Além disso, os dados indicam que a condição ocorre através de diversos mecanismos e que muitos deles não dependem da causa da doença, ou seja, o mesmo mecanismo pode ser encontrado em diferentes doenças. É o caso da neuralgia pós-herpética e da polineuropatia dolorosa. Diferentes mecanismos podem levar a um mesmo sintoma em um paciente (WOOLF, 1998; HERRMANN, 2006). Sendo assim, a complexidade da dor neuropática realça sua importância clínica uma vez que os regimes de tratamentos são baseados no mecanismo da doença (SCHOLZ, 2009; WASNER, 2009).

Existem diversos modelos experimentais descritos na literatura para o estudo da dor neuropática em animais, desenvolvidos a partir de lesões periféricas traumáticas, metabólicas ou tóxicas (GREGORY et al., 2010; BARROT et al., 2012). Dentre os modelos estão (a) ligadura do nervo espinal, onde um ou mais nervos espinais que passam pelas patas são apertados com um laço; (b) ligadura isquiática parcial, que parte do nervo é apertada por um laço; (c) lesão constritiva crônica, onde são feitas quatro ligaduras com um fio cromado no nervo isquiático; (d) lesão limitada do nervo, no qual os nervos fibular e tibial posterior são cortados e poupado o sural. Em longo prazo, as técnicas provocam alterações no comportamento dos animais (KRAYCHETE, 2008)

Além dos citados, outros modelos induzem a dor neuropática. Esses modelos consistem em mimetizar doenças que levam ao desenvolvimento da neuropatia. A injeção intraperitoneal de estreptozocina induz diabetes no animal, que é uma das principais causas de dor neuropática. O paclitaxel e a vincristina, ambos quimioterápicos, também induzem dor neuropática quando injetados de forma contínua em um período de tempo específico. Todos os

modelos descritos visam a indução da hiperalgesia mecânica e/ou térmica (KRAYCHETE, 2008; MARTIN, 2011)

Para dor de origem central, os modelos experimentais realizam uma contusão, que é o trauma induzido por força de impacto com deslocamento tissular, ou através de lesões isquêmicas por compressão de vasos que irrigam o sistema nervoso. A neuropatia também pode ser induzida através de métodos citotóxicos, onde se emprega a injeção de análogos de glutamato ou substâncias que permitem a lesão de locais específicos da substância cinzenta (KRAYCHETE, 2008)

## **1.2 Tratamentos farmacológicos atuais**

Atualmente o tratamento da dor baseia-se na utilização de fármacos analgésicos simples (paracetamol, dipirona), anti-inflamatórios não esteróides (AINES), opióides e adjuvantes (ROCHA, 2007; OMS, 1996), sendo os AINES os mais utilizados para a diminuição da dor (MENDEL, 2003). Ainda são utilizadas outras classes de fármacos para a promoção da analgesia como os adjuvante agonistas alfa-2-adrenérgico, corticóides, relaxantes muscular, anticonvulsivantes, anestésicos e os antidepressivos (ISSY, 2005; GOMES, 2007).

Os indivíduos com dor neuropática, normalmente, não respondem aos AINES e a resistência ou insensibilidade aos opióides é comum (WOOLF & MANNION, 1999). Segundo DUBOIS (1998), os AINES são uma das classes de medicamentos mais utilizados. Eles têm como função a redução da produção de prostaglandina (PG), prostaciclina e tromboxano através da inibição da enzima ciclooxigenase (COX). Essa redução em consequência a diminuição no processo inflamatório, fazendo com que a dor seja diminuída (VANE, 1971). Graças à inibição de todas as formas da COX (COX-1, COX-2 e COX-3) diversos efeitos adversos surgiram, como complicações renais, aumento da pressão arterial e até efeitos no SNC (BLUM et al., 1980; WHELTON, 1994; BATLOUNI, 2010). Por esse motivo, foram desenvolvidos novos AINES seletivos para COX-2 (KUMMER et al., 2002). Atualmente no Brasil a venda desses fármacos só é realizada com a retenção da receita, tendo em vista que apresentaram diversos efeitos adversos importantes como aumento do risco de infarto do miocárdio, acidente vascular

encefálico, insuficiência cardíaca ou renal, hipertensão arterial, úlceras no trato gastrointestinal, sangramentos de estômago e duodeno (ANVISA, 2008; MONTEIRO et al., 2008; NOBREGA et al, 2005).

Já os analgésicos opióides atuam como agonistas de receptores específicos:  $\mu$  (mi),  $\kappa$  (kappa) e  $\sigma$  (delta) (WAY et al., 2002; STEIN et al., 2009). Esses receptores estão localizados principalmente no SNC, nos nervos responsáveis pela modulação e transmissão da dor, na medula espinhal e no cérebro (MANSOUR et al., 1994). Durante o processo inflamatório, esses receptores são expressos no sistema nervoso periférico. Graças a sua presença nas fibras C localizadas nos nervos aferentes primários, ocorre uma prevenção da ativação e sensibilização dessas fibras, além de inibir a liberação de neurotransmissores (STEIN et al, 1993).

Através da ação em estruturas espinhais e supra-espinhais, os fármacos agonistas dos receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos produzem analgesia. Quando administradas doses reduzidas desses agonistas, em qualquer um destes locais, a analgesia é induzida com mínimos efeitos adversos (GUIRRO et. Al., 2009; VALVERDE, 2010).

Os corticoesteróides apresentam uma ação supressora de descargas ectópicas, e por isso são utilizados no tratamento da dor, sendo mais usual o uso de dexametasona ou prednisona (OLIVEIRA & GABBAI, 1998).

A classe dos relaxantes musculares consiste em dois tipos de fármacos, os bloqueadores despolarizantes e os adespolarizantes. Esses medicamentos são utilizados em analgesia por prejudicar a transmissão neuromuscular e proporcionar um relaxamento na musculatura esquelética (APPIAH-ANKAM & HUNTER, 2004; BOWMAN, 2006).

Os anticonvulsivantes exercem seus efeitos através da redução da hiperexcitabilidade neuronal anormal com estabilização da membrana neuronal, diminuição da transmissão sináptica e supressão da atividade espontânea que pode ocorrer no neurônio aferente primário e gânglio da raiz dorsal. Essa classe é usualmente indicada para situações onde ocorrem lesões nervosas parciais ou totais que causam desequilíbrio entre os impulsos aferentes e os mecanismos de modulação, como por exemplo, na dor por deafferentação (OLIVEIRA, 1998; TREMONT-LUKATS et al, 2000).

Os anestésicos locais também são utilizados no tratamento da dor. São substâncias que bloqueiam a condução nervosa de forma reversível, e ocorre uma recuperação completa da função do nervo após o seu uso (CARVALHO, 1994). Todavia, os anestésicos locais apresentam limitações sobre seu uso devido a sua duração de ação relativamente curta (2 a 4 horas) (DE ARAUJO, 2003)

Há muitos anos os antidepressivos vêm sendo utilizados como adjuvantes no tratamento da dor (KRAYCHETE, 2003). Sua atividade no tratamento da dor pode ser dividida em duas ações, sendo a primeira o alívio da dor, de forma parecida com o resultado obtido com analgésicos comuns e a segunda no tratamento da dor crônica, usados como adjuvantes juntamente com os analgésicos convencionais (McQUAY & MOORE, 1997). O mecanismo de ação dos antidepressivos para o tratamento da dor consiste no bloqueio da recaptção de serotonina e/ou noradrenalina na fenda sináptica (MEDAWAR, 2012), o que segundo CLARK (2000) é o que faz com ocorra um aumento da ativação de neurônios inibitórios descendentes, graças ao aumento da concentração dos neurotransmissores na fenda.

### **1.3 Produtos naturais**

De acordo com a legislação sanitária brasileira, fitoterápico é o medicamento obtido quando são empregadas exclusivamente matérias-primas ativas vegetais. Esses medicamentos são caracterizados pelo conhecimento de sua eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade (Brasil, 2004a). Nos últimos anos a fitoterapia vem crescendo de forma significativa no Brasil e no mundo como uma forma de terapia medicinal. Atualmente, o mercado de fitoterápicos gira em torno de aproximadamente 22 bilhões de dólares por ano. No Brasil está localizado um terço de toda a flora mundial e, por esse motivo, espera-se-ia que o país fosse um grande privilegiado no avanço do tratamento utilizando fitoterápicos (YUNES, 2001; CALIXTO, 2000). Os dados oficiais sobre o mercado de fitoterapia no nosso país mostram que gira em torno de 160 milhões de dólares por ano e estima-se que o mercado cresça mais de 15% por ano, contra 4% no aumento de vendas de medicamentos sintéticos. (FEBRAFARMA, 2007).



A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), autarquia do Ministério da Saúde, é o principal órgão responsável pela regulamentação de plantas medicinais e derivados e seu principal objetivo é a garantia da segurança sanitária de produtos e serviços de saúde (BRASIL, 1999). Todos os medicamentos devem ser registrados na agência para que sejam então comercializados. A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) 48/2004, que determina os aspectos essenciais ao registro, como identificação botânica das espécies utilizadas, padrão de qualidade e identidade e provas de eficácia e segurança que validem as indicações terapêuticas propostas, é a regulamentação em vigor que é utilizada para o registro do medicamento fitoterápico. Além dessa última, são utilizadas também resoluções específicas para cada quesito. (Brasil, 2004a,b,c,d,e). Segundo CARVALHO (2008), são 512 medicamentos fitoterápicos registrados no Brasil, sendo 80 fitoterápicos associados e 432 simples (derivados de apenas uma espécie vegetal). Existem 162 espécies vegetais que possuem derivados registrados na ANVISA.

CALIXTO (2005a) revela em um levantamento feito no período entre 1984 e 2004, no site Web of Science, que poucas áreas de pesquisa cresceram tanto no Brasil como as pesquisas com plantas. Essa afirmação foi feita baseada no número de trabalhos publicados em periódicos internacionais. Essas publicações passaram de 24 (1984-1986) para 1.431 (2002-2004), fazendo do Brasil um líder em publicações internacionais na área de plantas na América Latina, com 41,6% das publicações. CALIXTO (2003) afirma ainda que para o aproveitamento racional da biodiversidade brasileira, o grande desafio é transformar um imenso patrimônio genético natural em riquezas. Essa transformação ocorrerá com a criação de indústrias de base tecnológica e com a geração de empregos qualificados. Algumas áreas específicas devem ser mais exploradas por cientistas, como a toxicologia, farmacologia clínica, tecnologia farmacêutica, propriedade intelectual, entre outras, aumentando as possibilidades do descobrimento de novos fitoterápicos.

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde tempos imemoriais. A busca pela cura através da ingestão de ervas e folhas talvez tenha sido uma das primeiras maneiras de utilização desses produtos (VIEGAS JR, 2006). Uma das substâncias analgésicas importantes que são originadas

de produtos naturais é o ópio. Preparado dos bulbos de *Papaver somniferum*, é conhecido há séculos por suas propriedades analgésicas e soníferas. Após o início dos estudos da constituição química do ópio, foi possível que a morfina, seu constituinte majoritário, fosse isolado. Em seguida, outros alcaloides produzidos pelo ópio também foram descobertos como a codeína, a tebaína, a narcotina e a papaverina (SHU, 1998; MONTANARI et al., 2001; BARREIRO et al., 2001; NEWMAN et al., 2003; AMARAL et al., 2003).

Outra descoberta importantíssima a cerca da utilização de produtos naturais como analgésicos são os salicilatos obtidos a partir da *Salix alba* que ocorreu em 1757, por Edward Stone. Anos após a descoberta o ácido salicílico foi sintetizado a partir da salicina, extraída da planta. Em 1898, Felix Hoffman descobriu o ácido acetilsalicílico, que foi mais tarde levado pela empresa Bayer para ser lançado como um novo produto analgésico com o nome de Aspirina® (AGOSTA, 1997; YUNES et al., 2001).

#### **1.4 Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba**

O Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PARNA Jurubatiba) é uma unidade de conservação. Foi criado com o objetivo de conservar e preservar o seu patrimônio natural que é explorado para fins científicos, educacionais, paisagísticos e recreativos. O PARNA foi criado em 29 de abril de 1998 e conta com 14.922,38 hectares, 44 km de costa e 18 lagos costeiras. Ele está localizado ao longo do litoral Norte do Estado do Rio de Janeiro, nos municípios de Macaé, Carapebus e Quissamã. Segundo o Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), é uma das unidades de conservação brasileiras mais estudadas e objeto de pesquisadores de diversas instituições de pesquisa.

Dessa forma, o estudo de atividades biológicas de plantas presentes no parque é de extrema relevância para a geração de conhecimento científico a respeito dessa flora assim como contribui para a conservação desse patrimônio. O estudo dessas espécies vegetais se torna promissor para a busca de novas substâncias com propriedades biológicas incluindo atividade

analgésica e que podem contribuir para o desenvolvimento de novas terapias para a dor.



Figura 3 – Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, localizado na Região Norte Fluminense. Disponível em <http://turismo.culturamix.com/ecoturismo/parques-nacionais/parque-nacional-da-restinga-da-jurubatiba>. Acesso em 27/05/2016

### 1.5 Gênero *Vitex*

O genero *Vitex* de acordo com a análise filogenética pertence à família Lamiaceae (anteriormente Verbenaceae; CANTINO et al, 1992) a qual reúne 236 generos e mais de 7000 espécies. As espécies do gênero *Vitex* (total de 250) são arbustos ou árvores (1-35 m) que ocorrem em regiões de clima tropical e subtropical (SANTOS, 2001). No Brasil esse gênero é encontrado em estados como Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo (GALLO, 2006). Na literatura é possível identificar diversos estudos que apontam atividades biológicas importantes de algumas espécies do gênero *Vitex*. Para a espécie *V. agnus-castus* já foi documentada atividade antinociceptica (KHALILZADEH, 2015), assim como atividade antifúngica (ASDADI, 2015), redução dos sintomas pré-menstruais (WUTTKE, 2003) e uso como repelente (MEHLHORN, 2005).

Outras atividades já foram relatadas para esse gênero, como antioxidante (SATHIAMOORTHY, 2007), larvicida (KANNATHASAN, 2007), antibacteriana

(CHANDRAMU, 2003), antihelmintico (RASTOGI, 2009), antiinflamatório, analgésico e antihistamínico (DHARMASITI, 2003), além de antifúngico, antimicrobiano e ser usado na terapia alternativa para menopausa e ainda possuir efeito hepatoprotetor (WANG, 2015).

No PARNA Jurubatiba, é encontrada a espécie *Vitex polygama* conhecida popularmente como azeitona do campo, chá de cinco folhas, maria preta, tarumã, velame do campo, marianeira. Dentre as aplicações na medicina tradicional para a planta estão uso como diurético para expulsão de calculos renais, além de ter efeito antioxidante e antiinflamatório (Museu Nacional, acessado em 30 de Abril de 2016, disponível em <http://www.museunacional.ufrj.br/hortobotanico/paginas/especiesrestinga/vitexpolygama.htm>), entretando nenhuma dessas atividades foi constatada experimentalmente e não há nenhuma documentação a respeito de atividade analgésica para essa espécie, logo sendo de grande valia a identificação de propriedades biológicas para a planta.

## 2. Justificativa

A dor neuropática é uma síndrome que resulta em elevada morbidade e está associada a diversas condições clínicas. Seu tratamento é difícil e prolongado e muitas vezes ineficaz ou mesmo trazendo diversos efeitos adversos ao paciente. Dessa forma, a busca por novas terapias se faz necessário. Dentro desse contexto, surge o uso de produtos naturais que tem tido destaque para obtenção de novos medicamentos para diversas patologias inclusive a dor. Assim, o Brasil tem destaque visto o grande número de espécies presentes em sua fauna e flora. Na região norte fluminense está localizado o PARNA de Jurubatiba cujas espécies vegetais tem sido alvo de estudos para a busca de atividades biológicas. Dentre as espécies se destaca a planta *V. polygama* para a qual o gênero já foi relatado atividade analgésica em nosso laboratório. Logo esse trabalho visa estudar as propriedades analgésicas do gênero *Vitex* e da espécie *Vitex polygama* e ainda enriquecer o conhecimento e a importância da região como fonte para novas substâncias analgésicas.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

O estudo teve como objetivo avaliar o potencial terapêutico do gênero *Vitex* como fonte de novas substâncias analgésicas para o tratamento da dor neuropática.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Realizar revisão sistemática de literatura de estudos com o gênero *Vitex* relacionado à atividade analgésica em modelos animais e em humanos.
- Estudar o efeito do extrato bruto de *Vitex polygama* em modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos.
- Estudar o efeito das frações butanólica, hexânica e aquosa em modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos.

## **4. Material e Métodos**

### **4.1 Revisão sistemática**

A revisão sistemática foi realizada de acordo com as recomendações do Chocrane Handbook for Intervetion Reviews (HIGGINS; GREEN, 2011), disponível em <http://handbook.cochrane.org/>.

#### **4.1.1 Critérios de inclusão e exclusão**

Os artigos identificados pela estratégia de busca inicial foram avaliados independentemente por dois autores. Quanto a população, foram selecionados estudos com animais e com seres humanos. Em ambos os casos a dor ocorria. Quanto a intervenção, todos os estudos incluídos possuíam tratamento para dor com alguma espécie do gênero *Vitex*.

As bases de dados PubMed, Medline, LILACS e Scielo foram consultadas utilizando as palavras-chave *Vitex*, pain ou *Vitex* e dor. Foram excluídos artigos em duplicata e que não contemplassem as palavras-chave, revisões e os que não fossem artigos completos. Salvo os excluídos, todos os artigos nos últimos 20 anos foram considerados para essa revisão.

### **4.2 Coleta de material e preparo dos extratos**

As folhas da espécie *Vitex polygama* Cham. Foram coletadas em janeiro de 2011, no PARNA Jurubatiba, mediante autorização de coleta SISBIO 39673-2. A identificação botânica foi realizada pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatiana Ungaretti Paleo Konno e uma exsicata (RFA38750) foi depositada no Centro de Ciências da Saúde (CCS) da UFRJ – Campus Fundão, onde fica localizado o herbário.

Após o processo de seleção do material, este foi pesado e submetido à secagem em estufa a 40°C com circulação de ar para retirada da água, impedindo as reações de hidrólise e/ou crescimento microbiano. A secagem das folhas foi feita até que o peso das mesmas se mantivesse constante.

O extrato bruto foi obtido através do processo de maceração. Foram pesados 701 g de folhas secas e pulverizadas. Os solventes foram utilizados na proporção de 80% de etanol e 20% de água, com volume total de 3,5 L, o

que resultou em um extrato a 20% (p/V). Depois do processo de extração, o material foi filtrado e rotaevaporado, obtendo-se o extrato bruto hidroalcoólico.

Para a obtenção das frações, foram realizadas partições líquido-líquido, no qual foram utilizados 82,84 g do EVP ressuspensos em 400 mL de metanol:água (MeOH:H<sub>2</sub>O). Foram utilizados solventes com polaridade crescente: Hexano PA (Hex), Butanol PA (BuOH) e Água (HOH), conseguindo-se, assim, uma extração fracionada, em que as diferentes frações contêm compostos de polaridade também crescente

### **4.3 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar fêmeas, pesando entre 180 gramas e 250 gramas. Todos os animais foram provenientes do Biotério do Laboratório Integrado de Pesquisa (LIP) do Campus UFRJ – Macaé. Eles foram mantidos em caixas de polietileno com no máximo 5 animais, com ração padrão e água *ad libitum*. Todos os experimentos realizados com animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Campus UFRJ-Macaé, sob o protocolo MAC014.

### **4.4 Modelo de dor neuropática**

Para o estudo da atividade analgésica do extrato bruto e frações, foi utilizado o modelo de dor neuropática induzida por vincristina em ratos. A vincristina é um alcalóide de vinca obtido da *Madagascar periwinkle* utilizada principalmente na quimioterapia de leucemias (HIMES et al., 1976, OWELLEN et al., 1976). Um dos principais efeitos adversos desse fármaco é a indução de dor neuropática (CASEY et al., 1973, SANDLER et al., 1969) e devido a isso vem sendo utilizada para indução de dor neuropática em animais (NAGAMATSU et al., 1995). A neuropatia é obtida conforme descrito na literatura (KAHNG et al., 2015) onde os animais são tratados com vincristina por via intraperitoneal (0,1 mg/kg) por 5 dias consecutivos, 1 vez ao dia. Após um intervalo de 2 dias, os animais são novamente tratados por mais 5 dias consecutivos, 1 vez ao dia, na mesma dosagem, somando dez dias de administração do fármaco. A Figura 4 resume o esquema de tratamento para indução de dor neuropática com vincristina.



## 4.5 Teste de placa quente

Para avaliação da dor neuropática foi realizado o teste da placa quente (Figura 5). O ensaio consiste em colocar os animais sobre uma superfície aquecida (placa quente mod. EFF-361, Insight, BR) com temperatura ajustada em  $51,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e então com ajuda de um cronometro quantificar o tempo que o animal leva para levantar a pata traseira esquerda (WOOLFE e MC DONALD, 1994). Animais com dor tendem a levantar a pata num intervalo de tempo menor em relação aos animais sem dor. Os dados de dor são apresentados como tempo de latência (segundos) para elevação da pata. A presença de atividade analgésica das substancias teste é identificada pelo aumento do tempo de latência.

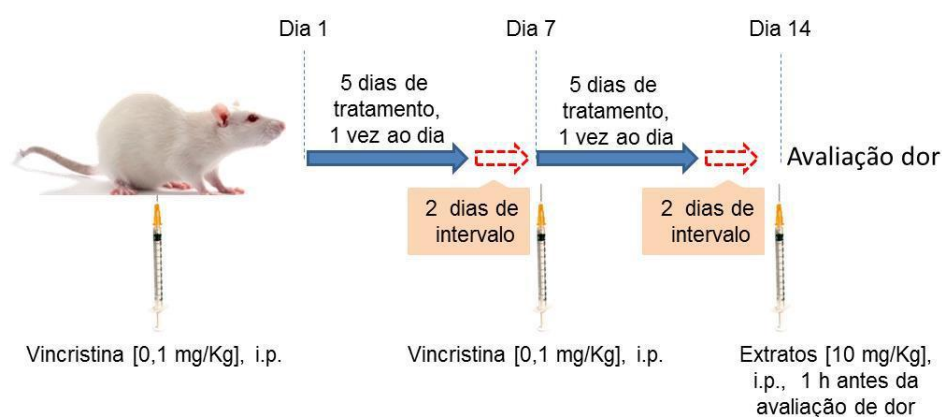


Figura 4: Esquema de tratamento com vincristina e extratos em ratos Wistar. Ratos receberam tratamento intraperitoneal (i.p.) de vincristina [0,1 mg/kg] por 10 dias com intervalo de 2 dias após os 5 primeiros dias. Após 2 dias da última administração de vincristina a dor foi avaliada em todos os animais. O tratamento com extratos [10 mg/kg] foi administrado (i.p.) 1 hora antes da avaliação de dor.



Figura 5 – Ilustração de teste de placa quente. O animal é colocado sobre uma superfície aquecida a  $51,5^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e o tempo de levantamento da pata traseira esquerda é cronometrado.

#### 4.6 Tratamentos

O tratamento dos animais com o extrato e as frações da *Vitex polygama* foi feito por via intraperitoneal, aos 14 dias após a primeira administração de vincristina (Figura 4). A dose do extrato bruto e frações foi de 10 mg/kg administrados 1 hora antes do teste da placa quente (descrito anteriormente). Os extratos foram diluídos no veículo DMSO (PA). Animais controle foram tratados com DMSO (PA). A dor foi avaliada 1, 3, 6 e 24 horas após a administração dos extratos ou frações.

#### 4.7 Análise Estatística

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GraphPrism 5.0. Foi utilizado o teste de análise de variância (ANOVA) para comparações de valores, além do pós-teste Newman-Keuls. As variações entre os grupos experimentais e o grupo controle (salina) foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

## 5. Resultados e discussão

### 5.1 Revisão sistemática

A busca nas bases de dados resultou em um total de 23 artigos, e após os critérios de inclusão e exclusão, restaram 14 artigos selecionados (Figura 6). Dos 14 artigos utilizados nessa revisão, 6 foram relacionados a espécie *Vitex negundo*, 2 para a espécie *V. rotundifolia*, 4 para a espécie *V. agnus-castus* e 2 para espécie *V. cymosa* (Figura 7). Os artigos selecionados documentaram atividade analgésica tanto em modelos de dor em animais quanto nos estudos clínicos em humanos. Dos 14 artigos selecionados, 4 trabalhos documentavam atividade analgésica de plantas do genero *Vitex* realizados em humanos e 10 documentavam atividade analgésica em modelos animais (Figura 8). Esses achados indicam a relevância do genero para o tratamento de dor.

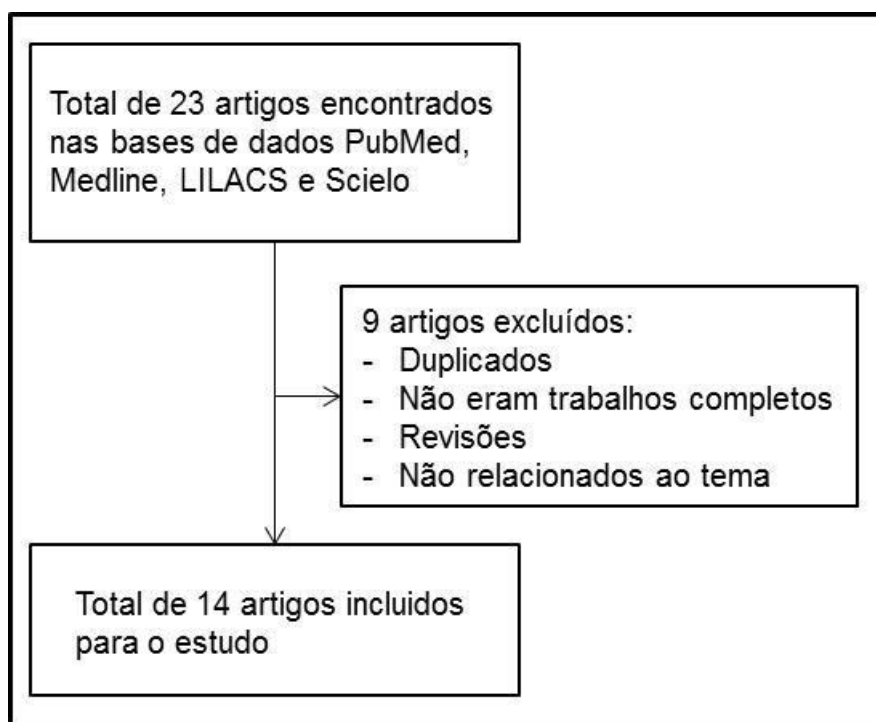


Figura 6 – Diagrama de fluxo para a seleção de artigos para o estudo.

■ Vitex negundo ■ Vitex rotundifolia ■ Vitex agnus-castus ■ Vitex cymosa Bertero

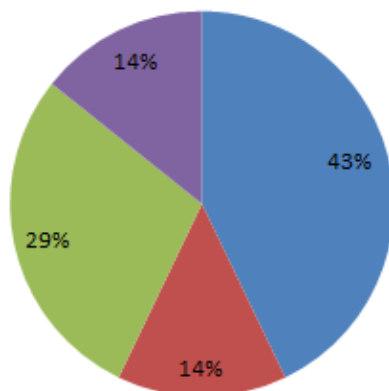


Figura 7 – Distribuição percentual (%) de artigos por espécie vegetal. O dado apresenta o percentual de trabalhos avaliando dor com base nos critérios de inclusão e exclusão para as espécies documentadas *Vitex negundo* (6 artigos, 43%), *Vitex rotundifolia* (2, 14%), *Vitex agnus-castus* (4, 29%) e *Vitex cymosa* (2, 14%) em relação ao total de artigos (14) incluídos nesse trabalho.

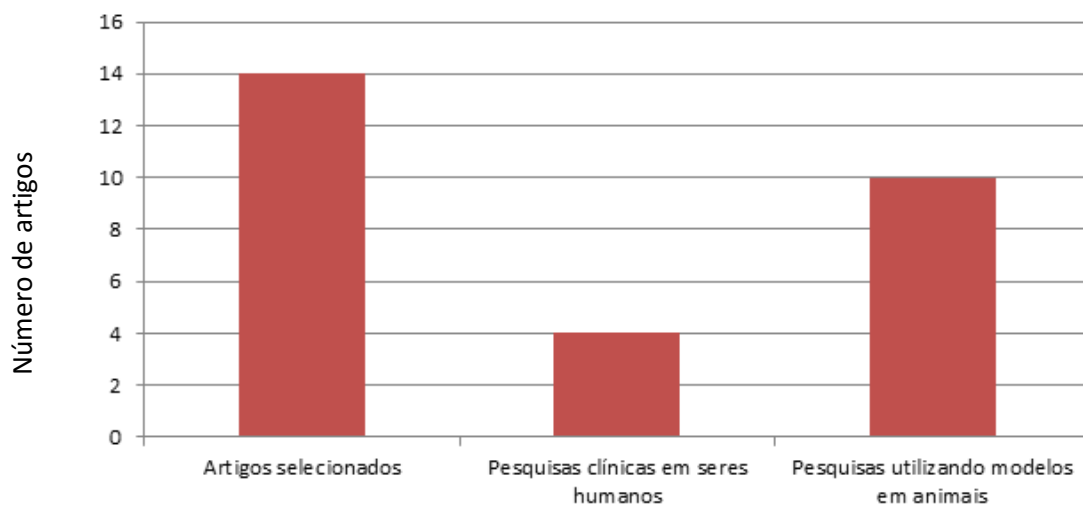


Figura 8 – Distribuição de artigos por tipo de estudo realizado. Número exato de artigos incluídos de acordo com o tipo de estudo realizado, pesquisa em seres humanos (4 artigos), pesquisa em animais (10 artigos) e o total de artigos incluídos (14).

### 5.1.1 Características dos estudos incluídos

Os estudos selecionados apresentam como resultados principais os efeitos do tratamento com extratos de espécies de plantas do gênero *Vitex*. A

Tabela 2, a seguir, apresenta todos os artigos selecionados apontando seus principais resultados. Podemos constatar que o modelo de dor aguda é o mais utilizado em ensaios com animais. Já em humanos as plantas desse gênero tem sido aplicadas em mulheres, provavelmente devido ao fato de trabalhos apontarem eficácia desses extratos na regularização do ciclo menstrual (para revisão ver Ravi & Sharma, 2013).

Tabela 2 – Artigos que documentam os efeitos analgésicos de extratos de plantas do gênero *Vitex* em modelos em animais e estudos com humanos.

<b>Número</b>	<b>Artigo</b>	<b>Planta</b>	<b>Principal resultado</b>	<b>Referência</b>
1	<i>Antinociceptive effects, acute toxicity and chemical composition of Vitex agnus-castus essential oil.</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	Atividade em modelos de dor aguda (formalina, ácido acético e imersão de calda)	Khalilzadeh et al 2015
2	<i>Comparison of fructus agni casti and flurbiprofen in the treatment of cyclic mastalgia in premenopausal women.</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	Atividade analgésica em mulheres com mastalgia	Dinç T & Coşkun, 2014
3	<i>The antinociceptive properties of the novel compound (±)-trans-4-hydroxy-6-propyl-1-oxocyclohexan-2-one in acute pain in mice.</i>	<i>Vitex cymosa Bertero</i>	Atividade em modelos de dor aguda (formalina e placa quente)	Marinho et al, 2013
4	<i>Use of Vitex agnus-castus in migrainous women with premenstrual syndrome: an open-label clinical observation.</i>	<i>Vitex agnus-castus</i>	Atividade analgésica em mulheres com exaureca	Ambrosini et al, 2013
5	<i>Antinociceptive activities of the liposoluble fraction from Vitex negundo seeds.</i>	<i>Vitex negundo</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (formalina, placa quente e ácido acético)	Zheng, 2010
6	<i>A clinical study of Nirgundi Ghana Vati and Matra Basti in the management of Gridhrasi with special reference to sciatica</i>	<i>Vitex negundo</i>	Atividade analgésica em pacientes com dor relacionada o nervo ciático	Mumtaz et al, 2010
7	<i>Structural determination Vitex cymosa Bertero active</i>	<i>Vitex cymosa Bertero</i>	Atividade analgésica em modelo de dor	de Maris e Miranda et al, 2010

	<i>principle:</i> <i>Diastereoselective synthesis of (+/-)-trans-4-hydroxy-6-propyl-1-oxocyclohexan-2-one and its antinociceptive activity.</i>		aguda (tail flick)	
8	<i>Bioactivity-guided fractionation for analgesic properties and constituents of Vitex negundo L. seeds.</i>	<i>Vitex negundo L.</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (formalina e ácido acético)	Zheng et al, 2009
9	<i>Anti-nociceptive and anti-hyperprolactinemia activities of Fructus Vitis and its effective fractions and chemical constituents.</i>	<i>Vitex rotundifolia L.</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (ácido acético)	Hu et al, 2007
10	<i>Antinociceptive activity of Vitex-negundo Linn leaf extract.</i>	<i>Vitex-negundo Linn</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (tail flick e ácido acético)	Gupta & Tandon, 2005
11	<i>Treatment of cyclical mastalgia with a solution containing a Vitex agnus castus extract: results of a placebo-controlled double-blind study.</i>	<i>Vitex agnus castus</i>	Atividade analgésica em mulheres com mastalgia	Halaska, 1999
12	<i>Anti-inflammatory and analgesic activities of mature fresh leaves of Vitex negundo.</i>	<i>Vitex negundo</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (inflamatória por carragenina)	Dharmasiri et al, 2003
13	<i>Pharmacologically active components of viticis fructus (Vitex rotundifolia). II. The components having analgesic effects.</i>	<i>Vitex rotundifolia</i>	Atividade analgésica em modelo de dor aguda (ácido acético)	Okuyama et al, 1998
14	<i>CNS activity of Vitex negundo Linn. in mice.</i>	<i>Vitex negundo Linn</i>	Aumento do efeito analgésico da morfina em camungondos	Gupta et al, 1999

## 5.2 Etnofarmacologia e evidências sobre as plantas medicinais da família *Vitex* que apresentaram atividade analgésica

### 5.2.1 *Vitex agnus-castus*

A *Vitex agnus-castus* é um arbusto nativo da Europa Mediterrânea e da Ásia Central. O extrato da fruta dessa planta tem sido usado no tratamento de muitas doenças do sexo feminino, incluindo distúrbios menstruais como dismenorréia (cólica antes ou durante a menstruação), amenorreia (ausência de fluxo menstrual), síndrome pré-menstrual, insuficiência de corpo lúteo, hiperprolactinemia, acne, entre outros (DANIELE, 2005). Estudos clínicos mostram ainda que a planta pode ser utilizada para aumentar as chances de gravidez, uma vez que ela inibe os níveis de prolactina, aumentando assim os níveis de progesterona na fase lútea (MILEWICZ, 1993).

Em estudo realizado por KHALILZADEH (2015) a atividade analgésica da espécie foi comprovada utilizando teste de formalina, de imersão de calda e contorção com ácido acético. Os autores utilizaram o óleo essencial extraído da *V. Agnus-castus* em uma concentração de 50 mg/kg. Além desse, a atividade analgésica da planta foi comprovada em estudos com mulheres que apresentavam dor associada a sintomas pré-menstruais como a mastalgia e a enxaqueca. DINÇ & COSKUN (2014), AMBROSINI et. al. (2013), HALASKA (1999), relataram em seus estudos um resultado significativo para a atividade antinociceptiva.

### **5.2.2 *Vitex cymosa***

A *Vitex cymosa* é uma pequena árvore que ocorre no Brasil de forma ampla nas regiões Central e Amazônica, onde é conhecida como “taruma-do-igapo” ou “taruma-do-alagado” (SANTOS et al., 2001). É utilizada por nativos no tratamento de dores reumáticas.

Algumas substâncias isoladas da planta já demonstraram grande potencial de analgesia em estudos prévios, realizados por MARINHO et al. (2013) e MIRANDA et. al. (2010), ambos pesquisadores do Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Fundão. Esses estudos tiveram como objetivo avaliar o potencial antinociceptivo do componente ( $\pm$ )-trans-4-hidroxi-6-propil-1-oxociclohexano-2-ona presente na planta *V. cymosa*. Através de experimentos utilizando modelos de indução de dor (teste de formalina, contorção com ácido acético, teste de placa quente e

teste de campo aberto e teste de Tail Flick) foi possível comprovar que o componente da espécie apresenta efeito analgésico.

### **5.2.3 *Vitex negundo***

Diversos estudos realizados com a *Vitex negundo* descrevem as atividades farmacológicas dessa planta. TELANG et al. (1999) estudaram e confirmaram o efeito analgésico e anti-inflamatório da espécie, e sugeriram que as atividades se dão graças a presença dos flavonoides contidos na planta. Além desses efeitos, a *V. negundo* ainda apresenta atividade anti-histamínica (DHARMASIRI, 2003). Dentre as demais espécies do gênero, esta é a que teve sua atividade antinociceptiva relatada mais vezes.

Dentre os estudos selecionados no presente trabalho, seis são relacionados ao estudo da *V. negundo*. Trata-se de estudos utilizando tanto as folhas quanto as sementes da espécie. Diversos modelos experimentais foram feitos para comprovar a ação antinociceptiva da planta, como o teste de edema de pata induzido por carragenina, teste de formalina, teste de placa quente, teste de tail Flick, teste de campo aberto. Todos os artigos mostraram um efeito significativo para analgesia da espécie.

### **5.2.4 *Vitex rotundifolia***

Assim como as demais espécies do gênero *Vitex*, a *V. rotundifolia* é amplamente estudada por suas diversas atividades farmacológicas. Alguns flavonoides contidos na planta já apresentam atividade inibitória na proliferação de linfócitos e no crescimento de algumas linhagens de células cancerígenas (YOU, 1998). No tratamento dos sintomas pré-menstruais (enxaqueca, cólicas) a espécie mostrou efeito satisfatório (HU, 2007).

OKUYAMA et. al. (1998) utilizou o modelo de dor aguda induzida por ácido acético para testar diversos componentes da *V. rotundifolia*. Através desse estudo foi possível observar que mais de um componente participa da atividade analgésica dessa espécie, como as lignanas e os iridóides.



Além desse, um estudo feito por HU et.al (2007), utilizando o mesmo modelo do anterior, comprovou que a planta tem como constituinte um componente identificado como capsaicina, apresenta efeito analgésico.

### 5.3 Resultados experimentais

#### 5.3.1 Indução de dor neuropática

Segundo CARDOSO (2011) a administração prolongada de vincristina induz dor neuropática após 2 semanas de exposição ao fármaco. Na Figura 9, apresentamos a cinética de indução de dor induzida por vincristina. Podemos observar que já aos 5 dias de administração de vincristina a dor é presente com redução do tempo de latência quando aplicado um estímulo térmico na pata dos animais. Com a manutenção da administração de vincristina, o tempo de latência é cada vez mais reduzido e de forma significativa em relação aos animais controle (SHAM) que receberam salina ao invés do quimioterápico. O estado de dor neuropática induzida por vincristina é decorrente de uma lesão de axônios de nervos periféricos (tanto em fibras A $\beta$  quanto fibras C) como descrito previamente (para revisão ver BOYETTE-DAVIS et al, 2015).

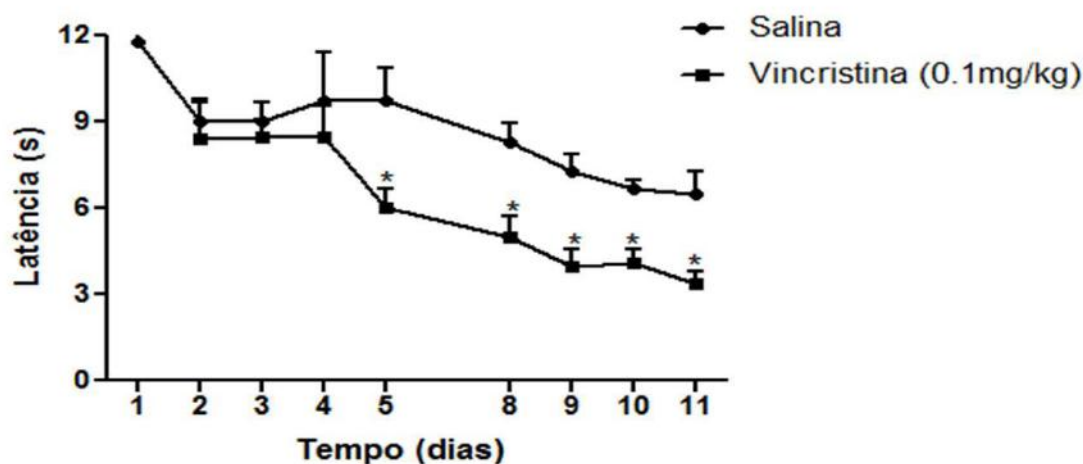


Figura 9 – Cinética de indução de dor induzida por vincristina. Animais foram tratados cronicamente com vincristina (0,1mg/kg/dia) ou com veículo (salina 0,9%) por 10 dias e diariamente avaliada a dor ao estímulo térmico ( $51^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) em placa quente. O gráfico apresenta o tempo de retirada da pata traseira esquerda a cada dia. \* $p < 0,5$  quando comparado grupo vincristina com grupo SHAM. N=8 em todos os grupos experimentais.

### 5.3.2 Tratamento utilizando o extrato e as frações de *Vitex polygama*

Conforme citado anteriormente, já foi descrito na literatura a atividade analgésica para plantas do gênero *Vitex* em modelos de dor em animais e em estudos com humanos, entretanto nenhum dado foi encontrado a respeito da espécie *Vitex polygama* planta encontrada no PARNA Jurubatiba. Conforme apresentado na Figura 2, o tratamento em dose única com o extrato bruto de *V. polygama* 1 hora antes da estimulação térmica dos animais com dor neuropática induziu analgesia nos tempos de 3 e 6 horas após a administração do extrato. Animais que tiveram lesão de nervo induzida por vincristina apresentavam tempo de latência de  $4,0 \pm 0,8$  segundos enquanto os animais controle (SHAM) tinham tempo de latência de  $7,6 \pm 1,8$  segundos, mostrando a presença de dor neuropática. O tratamento com extrato bruto de *V. polygama* resultou o estado analgésico 3 e 6 horas após sua administração com tempos de latência de  $8,0 \pm 1$  e  $9,1 \pm 0,8$  segundos respectivamente. Esse achado mostra pela primeira vez a presença de atividade analgésica em modelo de dor neuropática para a espécie *V. polygama*. Além disso, esse achado corrobora os dados de outros autores que descreveram atividade antinocicepção das plantas do gênero *Vitex*.

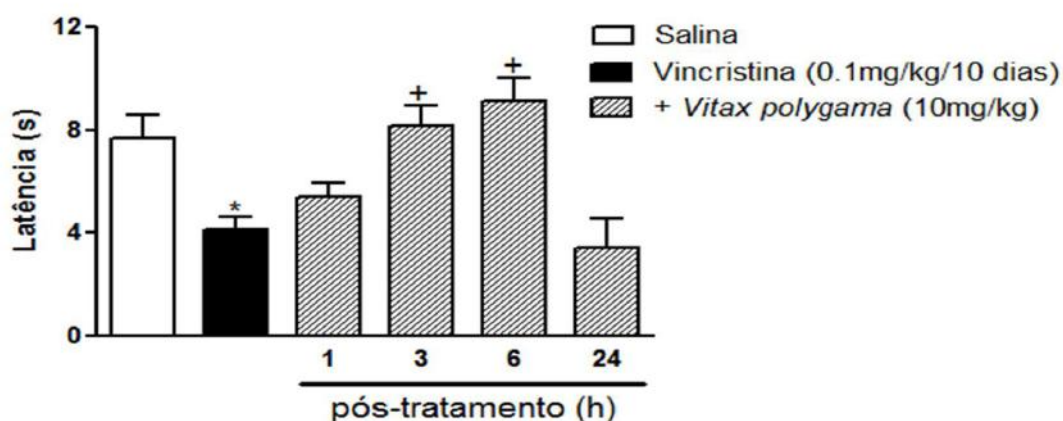


Figura 10 – Efeito do extrato bruto de *V. polygama* em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. Todas as barras representam tempo de latência de retirada da pata esquerda ao estímulo térmico ( $51^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) em placa quente. Barra branca representa animais controle (SHAM) que receberam salina (0,9%) ao invés de vincristina e/ou extrato. Barra preta representa animais com dor neuropática induzida por vincristina tratados com (DMSO). Barras hachuradas representam animais com dor neuropática que foram tratados com extrato bruto de *V. polygama* e o tempo de latência avaliado em 1, 3, 6 e 24h após administração do extrato.

\*p<0,01 comparado com o grupo SHAM. +p<0,01 comparado com o grupo vincristina. N=6 em todos os grupos experimentais.

Na etapa seguinte avaliamos o efeito de frações butanólica, hexânica e aquosa do extrato de *V. polygama* sobre a dor neuropática induzida por vincristina afim de pré-determinar que possíveis substâncias possam estar promovendo esse efeito analgésico. Seguindo o mesmo esquema de tratamento e análises do extrato bruto, foi administrada a fração butanólica nos animais com dor neuropática (Figura 11). Constatamos que na mesma dose utilizada do extrato bruto, a fração butanólica foi capaz de abolir a dor induzida por vincristina nos animais nos tempos de 1 e 3 horas após sua administração.

Dados da literatura já identificaram que *Vitex polygama* apresenta em sua composição sesquiterpenos, ácidos graxos, flavonas, flavonóis, ácidos fenólicos, monoterpenos, além de fitoesteróides, ecdisteróides e outras (GALLO et al, 2008; GALLO et al, 2006a,b). Para esse solvente os grupos majoritariamente encontrados são flavonoides e cumarinas simples (SIMÕES, 2000). Diversos flavonoides já foram identificados para a espécie *Vitex polygama* com destaque para as flavonas C-glicosiladas, por exemplo a orientina e a vitexina (GALLO, 2004). A vitexina recentemente foi testada em modelo de dor inflamatória em camundongos onde parece atuar em receptores vanilóides TRVP1 além de apresentar efeito no estresse oxidativo e inibir a secreção de citocinas. Dados recentes da literatura apontam que os receptores vanilóides poderiam ter papel na modulação da dor neuropática (LABUZ et al, 2016; CHEN et al, 2015). Assim podemos sugerir que flavonoides, como a vitexina, presentes no extrato de *Vitex polygama* poderiam ter papel na inibição da dor neuropática induzida por vincristina em ratos.

A fração aquosa quando administrada também promoveu analgesia ao estímulo térmico em animais com dor neuropática (Figura 12). Porém um efeito de mais curta duração aparecendo apenas em 1 hora após administração dessa fração. Geralmente entre os constituintes da fração aquosa de extratos vegetais estão os saponinas e fenóis, os quais também já foram descritos para a *Vitex polygama* (GALLO, 2004). Alguns estudos acusam que saponinas e fenóis de extratos vegetais podem apresentar diversos efeitos biológicos como ação anti-inflamatória e/ou analgésica (PAL et al, 2009; KIM et al, 2014; ) e

dessa forma poderiam contribuir para os efeitos do extrato de *V. polygama* apresentados nesse trabalho.

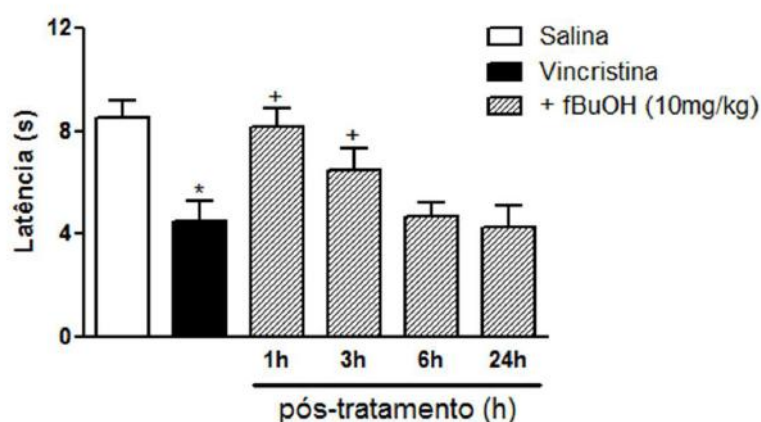


Figura 11 – Efeito da fração butanólica do extrato de *V. polygama* em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. Todas as barras representam tempo de latência de retirada da pata esquerda ao estímulo térmico (°C) em placa quente. Barra branca representa animais controle (SHAM) que receberam salina (0,9%) ao invés de vincristina e/ou extrato. Barra preta representa animais com dor neuropática induzida por vincristina tratados com (DMSO). Barras hachuradas representam animais com dor neuropática que foram tratados com a fração butanólica do extrato de *V. polygama* e o tempo de latência avaliado em 1, 3, 6 e 24h após administração do extrato. \* $p < 0,01$  comparado com o grupo SHAM. + $p < 0,01$  comparado com o grupo vincristina. N=6 em todos os grupos experimentais.

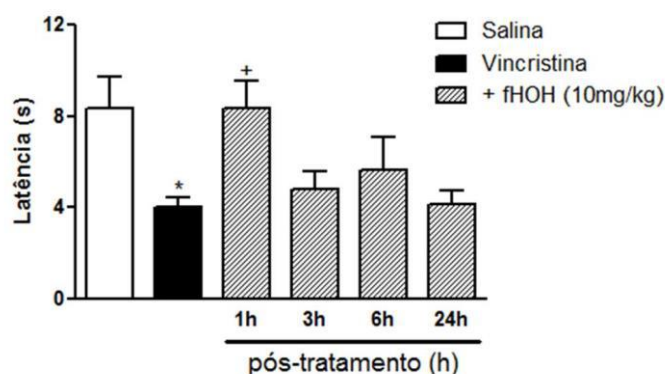


Figura 12 – Efeito da fração aquosa do extrato de *V. polygama* em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. Todas as barras representam tempo de latência de retirada da pata esquerda ao estímulo térmico (°C) em placa quente. Barra branca representa animais controle (SHAM) que receberam salina (0,9%) ao invés de vincristina e/ou extrato. Barra preta representa animais com dor neuropática induzida por vincristina tratados com (DMSO). Barras hachuradas representam animais com dor neuropática que foram tratados com a fração aquosa do extrato de *V. polygama* e o tempo de latência avaliado em 1, 3, 6 e 24h após administração do extrato. \* $p < 0,01$  comparado com o grupo SHAM. + $p < 0,01$  comparado com o grupo vincristina. N=6 em todos os grupos experimentais.

Finalmente, a fração hexânica, dentre as frações estudadas foi a única que não apresentou atividade inibidora da dor induzida por vincristina em nenhum dos tempos estudados, onde os valores de latência para os animais tratados é estatisticamente igual aos animais do grupo vincristina. Isso sugere que os componentes mais apolares não teriam papel na modulação da dor pelo extrato.

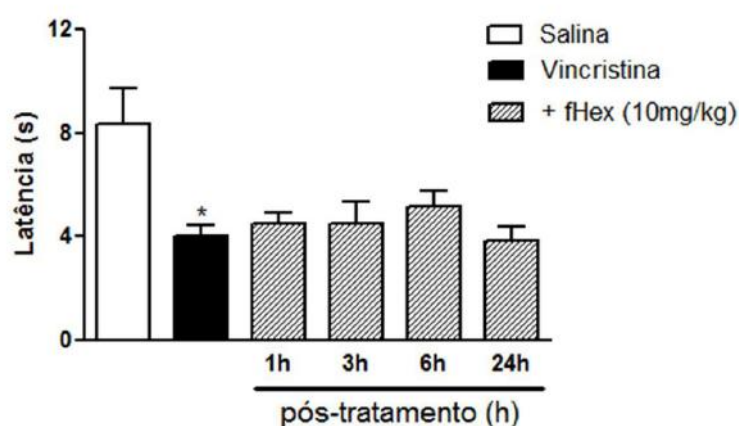


Figura 12 – Efeito da fração hexânica do extrato de *V. polygama* em modelo de dor neuropática induzida por vincristina. Todas as barras representam tempo de latência de retirada da pata esquerda ao estímulo térmico (°C) em placa quente. Barra branca representa animais controle (SHAM) que receberam salina (0,9%) ao invés de vincristina e/ou extrato. Barra preta representa animais com dor neuropática induzida por vincristina tratados com (DMSO). Barras hachuradas representam animais com dor neuropática que foram tratados com a fração hexânica do extrato de *V. polygama* e o tempo de latência avaliado em 1, 3, 6 e 24h após administração do extrato. N=6 em todos os grupos experimentais.

## 6. Conclusão

Concluimos que o gênero *Vitex* é de grande relevância para a busca de novas substâncias analgésicas, visto que 4 espécies já apresentam dados na literatura mostrando eficácia no tratamento de dor. Além disso, nossos achados experimentais mostraram pela primeira vez que a espécie *Vitex polygama* detém atividade analgésica em modelo de dor neuropática induzida por vincristina, atividade que ainda é presente em suas frações butanólica e aquosa sugerindo o papel de substâncias como flavonoides e saponinas. Nosso trabalho aponta que estudos devem ser conduzidos a fim de se isolar moléculas ativas ou ainda que fitoterápicos possam ser desenvolvidos a fim de serem utilizados no tratamento de dor neuropática.

## 7. Referências Bibliográficas

AGOSTA, W. C.; J. **Chem. Educ.** 1997, 74, 857.

AKKURT, H. E.; GÜMÜS, H.; GÖKSU, H.; ODABASI, O.F.; YILMAZ H. Gabapentin Treatment for Neuropathic Pain in a Child with Sciatic Nerve Injury. **Hindawi Publishing Corporation**, Article ID 873157, 2015

ALMEIDA, T. P.; MAIA, J. Z.; FISCHER, C. D. B.; PINTO, V. M.; PULZ, R.S.; RODRIGUES, P. R. C. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária. **Veterinária em Foco**, v. 3, n. 2, p. 107-118, 2006.

AMARAL, P. A.; NEVES, G.; FARIAS, F.; EIFLER-LIMA, V. L.; **Rev. Bras. Cienc. Farm.** 2003, 39, 351

APPIAH-ANKAM, J; HUNTER, J.M. Pharmacology of neuromuscular blocking drugs. **Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain**, v. 4, n. 1, p. 2-7, 2004.

ASDADI, A. et al. Study on chemical analysis, antioxidant and in vitro antifungal activities of essential oil from wild *Vitex agnus-castus* L. seeds growing in area of Argan Tree of Morocco against clinical strains of *Candida* responsible for nosocomial infections. **Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology**, v. 25, n. 4, p. e118-e127, 2015.

BALDO, M.V.C. Somestesia. In: AIRES, M.M. et al. **Fisiologia** 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**, 1ª ed., Ed. Artmed: Porto Alegre, 2001.

BARROT, M. Tests and models of nociception and pain in rodents. **Neuroscience**, v. 211, p. 39-50, 2012.

BIDARRA, A. P.. **Vivendo com a Dor: O cuidador e o doente com dor crónica oncológica**. 2010. 389 f. Tese de Mestrado - Curso de Ciências da Dor, Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa, 2010.

BLUM, M.; AVIRAM, A. Ibuprofen-induced hyponatremia. **Rheumatology and Rehabilitation**, v.19, n.4, p. 258-259, nov. 1980.

- BOLANDER, V. B. – Sorensen e Luckman – Enfermagem Fundamental: Abordagem psicofisiológica - Lusodidacta, 1ª edição, Lisboa, 1998.
- BONICA, J.J.; Loeser, J.D.. History of pains concepts and therapies. Bonica's management of pain, 3ª edição p. 3-16. Nova York, Lippincott Williams e Wilkins, 2001.
- BONICA, J.J.; YAKSH, T.; LIEBESKIND, J.C. Biochemistry and modulation of nociception and pain. In BONICA, J.J. (Ed). **The management of pain**. Filadélfia: Lea & Febiger, 1990, v.1, p. 95-121.
- BOWMAN, W. C. Neuromuscular block. **British journal of pharmacology**, v. 147, n. S1, p. S277-S286, 2006.
- BOYETTE-DAVIS JA, WALTERS ET, DOUGHERTY PM. Mechanisms involved in the development of chemotherapy-induced neuropathy. **Pain Manag**. 2015;5(4):285-96.
- BRASIL 2004a. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada** no. 48 de 16 de março de 2004. Aprova o regulamento técnico de medicamentos fitoterápico junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária. DOU. Diário Oficial da União, Poder Executivo, DF, Brasília, 2004.
- CAILLIET, R. Doenças dos tecidos moles. 3ª ed. Porto Alegre: **Artmed**; 2000.
- CALIXTO, J. B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 37-39, 2003.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res*, 33: 179-189, 2000
- CANTINO, P.D., HARLEY, R.M., WAGSTAFF, S.J. **Advances in Labiate Science**. Royal Botanic Gardens. Kew. 1992
- CARDOSO, K.V.V.. **Neuropatia autonômica induzida por cisplatina e vincristina em ratos: estudo funcional, eletrofisiológico e morfológico**. 2011. Tese de Doutorado.
- CARVALHO, A. C. B. et al. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.
- CARVALHO, José Carlos Almeida. Farmacologia dos anestésicos locais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 44, n. 1, p. 75-82, 1994.



- CASEY, E. B., JELLIFE, A. M., LE QUESNE, P. M., and MILLETT, Y. L. (1973). Vincristine neuropathy. **Clinical and electrophysiological observations**. *Brain* 96, 69–86.
- CHANDRAMU, C. et al. Isolation, characterization and biological activity of betulinic acid and ursolic acid from *Vitex negundo* L. **Phytotherapy research**, v. 17, n. 2, p. 129-134, 2003.
- CLARK, M.R. Pharmacological treatments for chronic non-malignant pain. **International Review of Psychiatry**, v.13, p. 148-156, 2000.
- CONIAM, S.W.; DIAMOND, A. – **Controlo da Dor - 1ª edição**, ISBN – 972 – 97250 – 6 – 3. Climepsi Editores, Lisboa, 1997.
- CONIAM, S.W.; DIAMOND, A – **Controlo da Dor Crónica – 1ª edição**, Climepsi Editores, Lisboa, 1999, ISBN – 972 – 8449 – 09 – 7.
- CONIAM, S.W.; DIAMOND, A. – **Controlo da Dor - 1ª edição**, Climepsi Editores, Lisboa, 1997, ISBN – 972 – 97250 – 6 - 3.
- CORAZZIARI, Enrico S.; COTTON, Peter B. Transtornos da vesícula biliar e do esfíncter de oddi. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 49, p. 28-33, 2012.
- COSTIGAN, M; SCHOLZ, J; WOOLF, C.J. Neuropathic pain: a maladaptive response of the nervous system to damage. **Annual review of neuroscience**, v. 32, p. 1, 2009.
- DANIELE, Claudia et al. *Vitex agnus castus*. **Drug Safety**, v. 28, n. 4, p. 319-332, 2005.
- DAVIES, M. BROPHY, S. WILLIAMS, R. TAYLOR, A. The prevalence, severity, and impact of painful diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetes. **Diabetes Care**. 2006 Jul;29(7):1518-22.
- DE ARAÚJO, Daniele Ribeiro et al. Formulações de anestésicos locais de liberação controlada: aplicações terapêuticas. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 53, p. 663-671, 2003.
- DE TOLÊDO NÓBREGA, Otávio; DE OLIVEIRA KARNIKOWSKI, Margô Gomes. A terapia medicamentosa no idoso: cuidados na medicação. 2005.
- DHARMASIRI, M. G. et al. Anti-inflammatory and analgesic activities of mature fresh leaves of *Vitex negundo*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 2, p. 199-206, 2003.

DJOUHRI, L.; LAWSON, S. N. A $\beta$ -fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals. **Brain Research Reviews**, v. 46, n. 2, p. 131-145, 2004.

DREWES, .M. The physiology of pain. **Ugeskrift for Laeger**, v. 168, n.20, p 1941 -1943, may 2006.

DUBOIS, R.; ABRAMSON, S.; CROFFORD, L.; GUPTA, R.A.; SIMN, L.S.; VN DE PUTTE, L.B.A.; LIPSKY, P.E. Cyclooxygenase in biology and disease. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n.12, p 1063-1088, sept. 1998.

DWORKIN, Robert H. et al. Advances in neuropathic pain: diagnosis, mechanisms, and treatment recommendations. **Archives of neurology**, v. 60, n. 11, p. 1524-1534, 2003.

E MIRANDA, Leandro S. de Maris et al. Structural determination Vitex cymosa Bertero active principle: Diastereoselective synthesis of ( $\pm$ )-trans-4-hydroxy-6-propyl-1-oxocyclohexan-2-one and its antinociceptive activity.**Bioorganic Chemistry**, v. 38, n. 5, p. 181-185, 2010.

FANTONI, D.T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e Controle da Dor, In: FANTONI, D.T. e CORTOPASSI, S.R.G. (Ed) **Anestesia em Cães e Gatos**. São Paulo: Roca, 2002, cap.31, p.323-334.

FEBRAFARMA. **Fitoterápico atrai investimentos**, 2007.

FEIN, A. Nociceptores: as células que sentem dor. Tradução de PETROV, P.; FRANCISCHI, J. N.; FERREIRA, S. H. Ribeirão Preto/SP, 2011.

FORSS, N.; RAIJ, T.T.; SEPPA, M.; HARI, R. Common cortical network for first and second pain. **Neuroimage**, v. 24, n.1, p. 132-142, jan. 2005.

FURST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. **Brain Research Bulletin**, v.48, n.2, p. 129-141, jan. 1999.

GALLO, M. B. C. et al. Bioactivity of extracts and isolated compounds from Vitex polygama (Verbenaceae) and Siphoneugena densiflora (Myrtaceae) against Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest management science**, v. 62, n. 11, p. 1072-1081, 2006.a

GALLO, M. B. C. et al. Quantitative determination of 20-hydroxyecdysone in methanolic extract of twigs from Vitex polygama Cham. **Journal of Chromatography B**, v. 832, n. 1, p. 36-40, 2006.b

GOMES, J. C. P.; TEIXEIRA, Manoel Jacobsen. Dor no idoso. **RBM Rev. Bras. Med**, v. 63, n. 11, p. 45-54, 2007.

GORE, M. DUKES, E. ROWBOTHAM, D.J. TAI, K.S. LESLIE, D. Clinical characteristics and pain management among patients with painful peripheral neuropathic disorders in general practice settings. **Eur J Pain**. 2007 Aug;11(6):652-64. Epub 2006 Nov 27.

GREGORY, N. S. et al. An overview of animal models of pain: disease models and outcome measures. **The Journal of Pain**, v. 14, n. 11, p. 1255-1269, 2013.

GRIFFIS, C.A.; COMPTON, P.; DOERING, L. The effect of pain on leucocyte cellular adhesion molecules. **Biological Research Nursing**, V.7, n.4, p.297 – 312, apr. 2006.

GUIRRO, E.C.B.P.; SOBRINHO, G.R.; FERREIRA, I.M.M.; VALADÃO, C.A.A. Injeção epidural de xilazina e amitraz, em equinos: Efeitos antinociceptivos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n. 1, p. 104-109, 2009.

GUPTA, R. K.; TANDON, V. R. Antinociceptive activity of Vitex-negundo Linn leaf extract. **Indian journal of physiology and pharmacology**, v. 49, n. 2, p. 163, 2005.

Herrmann DN, Pannoni V, Barbano RL, Pennella-Vaughan J, Dworkin, RH. Skin biopsy and quantitative sensory testing do not predict response to lidocaine patch in painful neuropathies. **Muscle Nerve** ; 33: 42–48, 2006.

HIMES, R. H., KERSEY, R. N., HELLER-BETTINGER, I., and SAMSON, F. E. (1976). Action of the vinca alkaloids vincristine, vinblastine, and desacetyl vinblastine amide on microtubules in vitro. **Cancer Res**. 36, 3798–3802.

HU, Y. et al. Anti-nociceptive and anti-hyperprolactinemia activities of Fructus Viticis and its effective fractions and chemical constituents. **Phytomedicine**, v. 14, n. 10, p. 668-674, 2007.

ISSY, A. M.; SAKATA, Rioko Kimiko. Dor músculo-esquelética. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 62, n. 12, p. 72-79, 2005.

JACOBSSON, L.; LINDGÄRDE, F.; MANTHORPE, R. The commonest rheumatic complaints of over six weeks' duration in a twelve-month period in a defined Swedish population prevalences and relationships. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 18, n. 6, p. 353-360, 1989.

JI, R.R.; STRICHARTZ, G. Cell signaling and the genesis of neuropathic pain. **Science's STKE**, v. 252, re14DOI: 10.1126, 2004.

JULIUS, D.; BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v.413, n.8852, p.203-210, sept. 2001.

KANNATHASAN, Krishnan et al. Differential larvicidal efficacy of four species of Vitex against Culex quinquefasciatus larvae. **Parasitology research**, v. 101, n. 6, p. 1721-1723, 2007.

KHALILZADEH, E. et al. Antinociceptive effects, acute toxicity and chemical composition of Vitex agnus-castus essential oil. **Avicenna journal of phytomedicine**, v. 5, n. 3, p. 218, 2015.

KLAUMANN, P. R., A. F. P. F. Wouk, and T. Sillas. "PATOFISIOLOGIA DA DOR (Pathophysiology of pain)." **Archives of Veterinary Science** 13.1 (2008): 1-12.

KRAYCHETE, D. C.; GOZZANI, J. L.; KRAYCHETE, A. C.. Dor neuropática: aspectos neuroquímicos. **Rev. Bras. Anestesiol.** Campinas , v. 58, n. 5, p. 492-505, Oct. 2008 .

KRAYCHETE, D. et al. Eficácia dos antidepressivos para dor crônica. **Revista brasileira de medicina**, v. 60, n. 5, p. 283-288, 2003.

KRAYCHETE, Durval Campos; GOZZANI, Judymara Lauzi; KRAYCHETE, Angiolina Campos. Dor neuropática: aspectos neuroquímicos:[revisão]. **Rev. bras. anestesiol**, v. 58, n. 5, p. 492-505, 2008.

KUMMER, C.L.; COELHO, T.C.R.B. Anti-inflamatórios não esteroides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.52, n.4, p. 498-512, ago. 2002.

LAMONT, L.A.; TRANQUILLI, W.J Physiology of Pain, The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v. 30, n.4, p-703-728, june 2000.

MAcKAY. W. **Neurofisiologia sem Lágrimas** - Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1999, ISBN – 972 – 31 – 0852 – 6.

MANSOUR, A.; FOX, C.A.; BURKE, S.; MENG, F.; THOMPSON, R.C.; AKIL, H.; WATSON, S.J.  $\mu$ ,  $\delta$  and  $\kappa$  opioid receptor mRNA expression in the

rat CNS: an in situ hybridization study. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 350, n.3, p.412-438, dec. 1994.

MARINHO, B. G. et al. The antinociceptive properties of the novel compound ( $\pm$ )-trans-4-hydroxy-6-propyl-1-oxocyclohexan-2-one in acute pain in mice. **Behavioural pharmacology**, v. 24, n. 1, p. 10-19, 2013.

MARTIN, Lelia Gonçalves Rocha; SILVA, Maria Denise Pessoa. Neuropatia periférica induzida por quimioterapia: uma revisão de literatura. *Einstein* (16794508), v. 9, n. 4, 2011.

MCQUAY, H.J.; MOORE, R.A. Antidepressants and chronic pain: Effective analgesia in neuropathic pain and other syndromes. **British Medical Journal**, v. 314, p. 763 – 764, 1997.

MEDAWAR, C. V.; MATHEUS, M. E. Antidepressivos Tricíclicos e Gabapentinóides: uma análise do perfil farmacológico no tratamento da dor neuropática. **Rev. Bras. Farm**, v. 93, n. 3, p. 290-297, 2012.

MEHLHORN, Heinz; SCHMAHL, Günter; SCHMIDT, Jürgen. Extract of the seeds of the plant *Vitex agnus castus* proven to be highly efficacious as a repellent against ticks, fleas, mosquitoes and biting flies. **Parasitology research**, v. 95, n. 5, p. 363-365, 2005.

MENDEL, J.R.; SAHENK, Z. Painful sensory neuropathy. **New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 13, p. 1243 – 1255, mar. 2003.

MERSKEY, H.; BOGDUK, N. Classification of chronic pain. In: **IASP Task Force on Taxonomy**. 2Ed Seattle: IASP Press, 1994, v.2, p. 209-214.

MESSLINGER, K. What is a nociceptor? **Der Anaesthetist**, v.46, n.2, p. 142-153, feb. 1997.

MILEWICZ, A. et al. *Vitex agnus castus* extract in the treatment of luteal phase defects due to latent hyperprolactinemia. Results of a randomized placebo-controlled double-blind study]. **Arzneimittel-forschung**, v. 43, n. 7, p. 752-756, 1993.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S.; **Quim. Nova** 2001, 24, 105.

MONTEIRO, Elaine Cristina Almeida et al. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). **Temas de reumatologia clínica**, v. 9, n. 2, p. 53-63, 2008.

Museu Nacional. Horto Botânico, *Vitex polygama*. Disponível em: <http://www.museunacional.ufrj.br/hortobotanico/paginas/especiesrestinga/vitexpolygama.htm> Acessado em 30 de Abril de 2016.

NETO, O. A. **Dor: princípios e prática**. Artmed, 2009.

NEWMAN, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M.; J. **Nat. Prod.** 2003, 66, 1022.

NIELSEN, CS. et al. Individual differences in pain sensitivity: genetic and environmental contributions. **Pain**, v. 136, n. 1, p. 21-29, 2008.

O'CONNOR A.B, DWORKIN R.H. Treatment of neuropathic pain: an overview of recent guidelines. **Am J Med.** 2009 Oct;122(10 Suppl):S22-32.

OKUYAMA, Emi et al. Pharmacologically Active Components of *Vitex rotundifolia*. II. The Components Having Analgesic Effects. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 46, n. 4, p. 655-662, 1998.

OLIVEIRA, ASB.; GABBAI, AA. Abordagem terapêutica da dor neuropática na clínica neurológica. **NEUROCIÊNCIAS**, p. 86, 1998

Organización Mundial de la Salud. **Alivio del dolor en el cáncer**. Ginebra: OMS, 1996.

OWELLEN, R. J., HARTKE, C. A., DICKERSON, R. M., and HAINS, F. O. (1976). Inhibition of tubulin-microtubule polymerization by drugs of the Vinca alkaloid class. **Cancer Res.** 36, 1499–1502.

PISERA, D. Fisiologia da dor. In: *Dor Avaliação e Tratamento em Pequenos Animais*. OTERO, P. E. São Paulo: **Interbook**, 2005. p. 30-74

RASTOGI, Trapti et al. Comparative studies on anthelmintic activity of *Moringa oleifera* and *Vitex negundo*. **Asian Journal of Research in Chemistry (AJRC)**, v. 2, n. 2, p. 181-182, 2009.

RIEDEL, W.; NEECK, G. Nociception, pain and antinociception: current concepts. **Zeitschrift für Rheumatologie**, v.60, n.6, p. 404-415, dec. 2001.

ROCHA, A.P.C. et al. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 57, n. 1, p. 94-105, 2007.

- SANDLER, S. G., TOBIN, W., and HENDERSON, E. S. (1969). Vincristine-induced neuropathy. **A clinical study of fifty leukemic patients**. *Neurology* 19, 367–374.
- SANTOS, T. C.; DELLE MONACHE, F.; LEITÃO, S. G. Ecdysteroids from two Brazilian *Vitex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 3, p. 215-220, 2001.
- SANTOS, T.C.; et al. Iridoids from *Vitex cymosa*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 6, p. 763-766, 2001.
- SAPETA, A. P. – Formação em enfermagem sobre cuidados paliativos e dor crónica, In: *Investigação em Enfermagem*, nº7, Coimbra, Fevereiro, 2000
- SATHIAMOORTHY, B. et al. New antifungal flavonoid glycoside from *Vitex negundo*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 17, n. 1, p. 239-242, 2007.
- SCHAIBLE, H. G. Pathophysiology of pain. **Orthopade**. v. 36, n. 1, p. 8-16, 2006.
- SCHESTATSKY, P. Definição, diagnóstico e tratamento da dor neuropática. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre**, v. 28, n. 3, p. 177-187, 2008.
- Scholz J, Mannion RJ, Hord DE, et al. A novel tool for the assessment of pain: validation in low back pain. **PLoS Med**, 2009.
- Shu, Y-Z.; **J. Nat. Prod.** 1998, 61, 1053.
- SPALLONE V, LACERENZA M, ROSSI A, SICUTERI R, MARCHETTINI P. Painful diabetic polyneuropathy: approach to diagnosis and management. **Clin J Pain**. 2012 Oct;28(8):726-43.
- STAUD, R.; ROBINSON, M. E.; PRICE, D. D. Temporal summation of second pain and its maintenance are useful for characterizing widespread central sensitization of fibromyalgia patients. **The Journal of Pain**, v. 8, n. 11, p. 893-901, 2007.
- STAUD, R.; RODRIGUEZ, M. E. Mechanisms of disease: pain in fibromyalgia syndrome. **Nature clinical practice Rheumatology**, v. 2, n. 2, p. 90-98, 2006.
- STEIN, C. et al. Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. **The Lancet**, v. 342, n. 8867, p. 321-324, 1993.

STEIN, C. et al. Peripheral mechanisms of pain and analgesia. **Brain research reviews**, v. 60, n. 1, p. 90-113, 2009.

TELANG, R. S. et al. Study on analgesic and anti-inflammatory activities of Vitex negundo Linn. **Indian journal of pharmacology**, v. 31, n. 5, p. 363, 1999.

TESFAYE S. Recent advances in the management of diabetic distal symmetrical polyneuropathy. **J Diabetes Investig**. 2011 Jan 24;2(1):33-42.

TJOLSEN, A.; HOLE, K. Pain regulation and plasticity. **Tidsskrift for den Norske Laegeforening**, v.113, n. 23, p. 2921-2924, 1993.

TRANQUILLI, W. J. Fisiologia da dor aguda. In: GREENE, S. A. Segredos em anestesia veterinária e manejo da dor. Porto Alegre: **Artmed**, 2004. p. 399-402.

TREEDE, R.D. *Peripheral acute pain mechanisms*. **Ann Med** 27:213-6. 1995.

TREMONT-LUKATS, Ivo W.; MEGEFF, Carla; BACKONJA, Misha-Miroslav. Anticonvulsants for neuropathic pain syndromes. **Drugs**, v. 60, n. 5, p. 1029-1052, 2000.

VALVERDE, A. Alpha-2 agonists as pain therapy in horses. **Veterinary clinics of North America – Equine practice**, v.26, n.3, p. 515-532, dec. 2010.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature**, v. 231, n. 25, p. 232-235, 1971.

VIEGAS JR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WANG, Y. et al. Antioxidant and hepatoprotective activity of vitex honey against paracetamol induced liver damage in mice. **Food & function**, v. 6, n. 7, p. 2339-2349, 2015.

Wasner G, Baron R. Pain: clinical pain assessment: from bedside to better treatment. **Nat Rev Neurol** 2009; 5: 359–61.

WHELTON, A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Effects on kidney function. In: GREENBERG, A. **Primer on kidney diseases** (Ed.). San Diego: Academic Press, 1994.



Woolf C.J., Bennett G.J., Doherty M, et al. Towards a mechanismbased classification of pain? *Pain*, 77: 227–29, 1998.

WOOLF, C. J.; MANNION, R. J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. **The lancet**, v. 353, n. 9168, p. 1959-1964, 1999.

WUTTKE, W. et al. Chaste tree (*Vitex agnus-castus*)–pharmacology and clinical indications. **Phytomedicine**, v. 10, n. 4, p. 348-357, 2003.

YOU, K. M. et al. Vitexicarpin, a flavonoid from the fruits of *Vitex rotundifolia*, inhibits mouse lymphocyte proliferation and growth of cell lines in vitro. **Planta medica**, v. 64, n. 6, p. 546-550, 1998.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. Curi; CECHINEL, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZHENG, C.-J. et al. Bioactivity-guided fractionation for analgesic properties and constituents of *Vitex negundo* L. seeds. **Phytomedicine**, v. 16, n. 6, p. 560-567, 2009.

ZIEGLER D. Current concepts in the management of diabetic polyneuropathy. **Curr Diabetes Rev**. 2011 May;7(3):208-20