



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
CAMPUS MACAÉ  
CURSO DE FARMÁCIA



## **ATIVIDADES ANALGÉSICA E ANTI-INFLAMATÓRIA DE EXTRATOS DE PLANTAS PRESENTES NA RESTINGA DE JURUBATIBA, RJ.**

Autora: Renata de Jesus Mello

Macaé  
Junho de 2014

**Renata de Jesus Mello**

**Título:** Atividades analgésica e anti-inflamatória de extratos de plantas presentes na Restinga de Jurubatiba, RJ.

Monografia apresentada ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de farmacêutico.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Paula Lima do Carmo.

Co-Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Juliana Montani Raimundo.

Macaé

Junho de 2014

*As pessoas sempre culpam as circunstâncias por aquilo que acontece com elas.*

*Não acredito em circunstâncias.*

*As pessoas que progridem na vida são aquelas que acordam pela manhã e procuram as circunstâncias que desejam, e se não as encontram, as criam.*

*(Jorge Bernard Shaw)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram no decorrer desta jornada, especialmente:

À Deus, a quem eu devo a minha vida. Por ter me dado força, quando eu não mais tinha, para superar toda e qualquer dificuldade encontrada ao longo desta caminhada.

Aos meus amados pais, Andréa Mara e Jorge Luís, meus maiores professores e exemplos na escola da vida, pelo extraordinário exemplo de amor, dedicação e também por me acompanharem nesta trajetória, me apoiando e incentivando em todos os momentos. Com toda certeza, foram o suporte para tornar possível essa conquista.

À minha amada família, pelo apoio e incentivo. Especialmente a minha avó Carmem Mello, pela dedicação, paciência e amor, à minha falecida avó Natilde Macedo, que deixou muitas saudades, mas também muita admiração. À minha tia Tânia Goivães e aos meus primos Vanessa Goivães e Carlos Goivães, pelo carinho, confiança e por nunca me deixarem desistir de conquistar este sonho.

Aos velhos amigos, por suportarem minha ausência em momentos importantes e também aos novos amigos que conquistei na faculdade, que nos dias de fracasso, respeitaram meus sentimentos e enxugaram minhas lágrimas.

Às minhas orientadoras Juliana Montani e Paula Carmo por me acolherem no Laboratório Integrado de Pesquisa desde o meu 3º período. Ambas foram fundamentais na elaboração deste trabalho e na minha formação acadêmica.

Ao Laboratório de Produtos Naturais (LaProN), em especial as professoras Michelle Muzitano, Ivana Leal e Denise Guimarães pelos extratos e frações cedidos.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ – Campus Macaé) pelo conceituado curso de Farmácia.

Às agências de fomento PIBIC, CNPq e FUNEMAC por apoiarem financeiramente todos os projetos por mim desenvolvidos.

Agradeço a todos que, de forma direta ou indireta, me ajudaram a realizar este sonho e torceram por mim, me ajudando a conquistar mais uma etapa da minha vida. Se hoje estou aqui, é porque vocês acreditaram em meu sucesso e caminharam ao meu lado. Recebam todos o meu “Muito Obrigado” repleto de amor e carinho.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> Metabolismo do ácido araquidônico.....	15
<b>FIGURA 2:</b> Representação esquemática dos diferentes tipos de neurônios sensoriais primário.....	18
<b>FIGURA 3:</b> Vias de transmissão e percepção da dor.....	19
<b>FIGURA 4:</b> Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.....	27
<b>FIGURA 5:</b> Espécies vegetais coletadas do PNRJ.....	29
<b>FIGURA 6:</b> Injeção intraplantar de formalina 2,5% e reação do animal após a injeção, lambendo a pata.....	32
<b>FIGURA 7:</b> Injeção intraperitoneal de ácido acético 0,8% em camundongo e contorção abdominal após a injeção.....	33
<b>FIGURA 8:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>S. schottiana</i> no teste de contorções abdominais.....	36
<b>FIGURA 9:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>H. balsamifera</i> no teste de contorções abdominais.....	37
<b>FIGURA 10:</b> Efeito do extrato das folhas de <i>T. guianensis</i> no teste de contorções abdominais.....	38
<b>FIGURA 11:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>O. notata</i> no teste de contorções abdominais .....	39
<b>FIGURA 12:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>O. notata</i> no teste da Formalina.....	40
<b>FIGURA 13:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>V. polygama</i> no teste de contorções abdominais.....	41
<b>FIGURA 14:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>V. polygama</i> no teste da Formalina.....	42
<b>FIGURA 15:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>P. mucronata</i> no teste de contorções abdominais.....	43
<b>FIGURA 16:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>P. mucronata</i> no teste da Formalina.....	44
<b>FIGURA 17:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>M. moricandiana</i> no teste de contorções abdominais.....	45

<b>FIGURA 17:</b> Efeito do extrato etanólico das folhas de <i>M. moricandiana</i> no teste da Formalina.....	45
<b>FIGURA 18:</b> Efeito da fração butanólica de <i>M. moricandiana</i> no teste de contorções abdominais .....	46
<b>FIGURA 19:</b> Efeito da fração butanólica de <i>M. moricandiana</i> no teste da Formalina.....	47

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>ESQUEMA 1:</b> Protocolo experimental do modelo de formalina intraplantar em camundongos.....	32
<b>ESQUEMA 2:</b> Protocolo experimental do modelo do ácido acético via <i>i.p.</i> em camundongos.....	34

## LISTA DE ABREVIações

- AA** - Ácido Araquidônico
- AAS** - Ácido acetilsalicílico
- ACTH** - Hormônio adrenocorticotrópico
- AIEs** - Anti-inflamatórios Esteroidais
- AMPc** - Adenosina monofosfato cíclico
- AINEs** - Anti-inflamatórios Não Esteroidais
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CDB** - Convenção da Diversidade Biológica
- CF** - Compostos Fenólicos
- COXs** - Ciclooxygenases
- COX-1** - Ciclooxygenase 1
- COX-2** - Ciclooxygenase 2
- COX-3** - Ciclooxygenase 3
- DMSO** - Dimetilsulfóxido
- DSTs** - Doenças sexualmente transmissíveis
- Fibras A $\beta$**  - Fibras A-beta
- Fibras A $\delta$**  - Fibras A-delta
- H. balsamífera*** - *Humiria balsamífera*
- HLA** - Antígenos leucocitários humanos
- HPETEs** – Ácidos Hidroperoxieicosatetraenoicos
- IL- 1** - Interleucina 1
- IL-2** - Interleucina 2
- i.p.** - Injeção intraperitoneal
- LaProN** - Laboratório de Produtos Naturais
- LOXs** – lipoxigenases
- LTs** - Leucotrienos
- M. moricandiana*** - *Mandevilla moricandiana*
- NO** - Óxido Nítrico
- OMS** - Organização Mundial de Saúde

***O. notata*** - *Ocotea notata*

**PAG** - Substância cinzenta periaquedutal

**PG** - Prostaglandinas

**PLA2** - Fosfolipase A2

***P. mucronata*** - *Passiflora mucronata*

**PNRJ** - Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba

**ROS** - Espécies Reativas de Oxigênio

**RVM** - Medula rostroventromedial

**SG** - Substância gelatinosa

**SNC** - Sistema Nervoso Central

***S. schottiana*** - *Stachytarpheta schottiana*

***T. bullata*** - *Tocoyena bullata*

**T.G** - Trato gastrointestinal

***T. guianenses*** - *Tapirira guianenses*

**TX** - Tromboxanos

***V. polygama*** - *Vitex polygama*

**5- LOX** - 5-lipoxigenase

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>1.1</b> Fisiopatologia da inflamação.....	13
<b>1.2</b> Nocicepção.....	16
<b>1.3</b> Fármacos anti-inflamatórios Esteroidais (AIEs) e Não Esteroidais (AINEs).....	21
<b>1.4</b> Produtos Naturais: Fonte de novos fármacos.....	24
<b>1.5</b> Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.....	26
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	28
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	28
<b>3.1</b> Objetivos Gerais.....	28
<b>3.2</b> Objetivos Específicos.....	29
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	29
<b>4.1</b> Espécies vegetais.....	29
<b>4.2</b> Animais.....	30
<b>4.3</b> Obtenção dos extratos.....	31
<b>4.4</b> Avaliação do potencial farmacológico.....	31
<b>4.5</b> Atividade Biológica: Efeito Anti-inflamatório.....	31
<b>4.5.1</b> Teste da Formalina.....	31
<b>4.6</b> Atividade Biológica: Efeito Analgésico.....	33
<b>4.6.1</b> Teste de Contorções Abdominais.....	33
<b>4.7</b> Análise Estatística.....	34
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	34
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	48
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	50

## RESUMO

### Atividades analgésica e anti-inflamatória de extratos de plantas presentes na Restinga de Jurubatiba, RJ.

O Norte do estado do RJ é uma região que apresenta grande biodiversidade e, onde está localizado o Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PNRJ), em que grande parte das espécies vegetais ainda não teve seu perfil farmacológico avaliado. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial analgésico/anti-inflamatório de espécies de plantas presentes no PNRJ: *H. balsamifera*, *M. moricandiana*, *O. notata*, *P. mucronata*, *S. schottiana*, *T. guianensis* e *V. polygama*. O estudo foi aprovado pelo CEUA da UFRJ sob protocolo MACAÉ02. Os experimentos foram realizados com camundongos *Swiss* machos, utilizando os protocolos: teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético *i.p.* e teste da formalina injetada na região subcutânea plantar. Os extratos hidroalcoólicos de *H. balsamifera*, *O. notata*, *S. schottiana* e *T. guianensis* (10 mg/kg), não tiveram efeito sobre a dor induzida por ácido acético. Nas doses de 5 e 10 mg/kg, os extratos de *P. mucronata* e *M. moricandiana* reduziram significativamente o número de contorções de  $30,5 \pm 4,3$  (DMSO) para  $13,3 \pm 7,9$  e  $3,0 \pm 1,8$ ;  $3,8 \pm 1,8$  e  $7,2 \pm 3,5$ , respectivamente ( $P < 0,05$ ). Os extratos de *V. polygama* (10 mg/kg) também reduziu o número de contorções para  $12,5 \pm 5,0$  ( $P < 0,05$ ). Além disso, 10 mg/kg dos extratos de *P. mucronata*, *M. moricandiana* e *V. polygama* inibiram significativamente a fase inflamatória do teste da formalina; sendo o tempo de reação reduzido de  $493,4 \pm 18,7$  s (DMSO) para  $257,0 \pm 52,7$ ;  $274,0 \pm 21,5$  e  $171,8 \pm 28,5$  s ( $P < 0,05$ ), respectivamente. *O. notata* reduziu os tempos na 1ª e na 2ª fases no teste da formalina para  $75,0 \pm 11,6$  e  $168,7 \pm 9,3$  s ( $P < 0,05$ ), respectivamente. Foi testada ainda a fração butanólica de *M. moricandiana*, que reduziu o número de contorções abdominais para  $2,3 \pm 0,7$  e reduziu os tempos de reação no teste da formalina na 1ª e na 2ª fases para  $75,0 \pm 11,6$  e  $168,7 \pm 9,3$  s, respectivamente ( $P < 0,05$ ). Os resultados indicam que os extratos hidroalcoólicos de *P. mucronata*, *M. moricandiana*, *O. notata* e *V. polygama* possuem atividade antinociceptiva e anti-inflamatória.

Palavras-chave: Plantas, Restinga de Jurubatiba, Anti-inflamatório, Analgésico.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Fisiopatologia da Inflamação

Aulus Cornelius Celsus, enciclopedista romano e curandeiro, descreveu, há mais de 2.000 anos, a inflamação como o aparecimento de rubor, calor, tumor e dor. A partir daí, a inflamação ficou caracterizada por uma resposta fisiológica imediata às injúrias externas e internas, incluindo as causadas por infecções, estresse físico, produtos químicos e patologias (SOBOLEWSKI *et al.*, 2010).

A inflamação é uma resposta natural do organismo contra a infecção ou lesão do tecido com o objetivo de destruir os agentes agressores (SHULAN SU *et al.*, 2012). A resposta inflamatória é caracterizada a nível clínico, por quatro sinais clássicos, que incluem calor, eritema, edema e dor. Porém, uma resposta inflamatória exacerbada pode levar a perda da função do tecido e/ou órgão (SERHAN e SAVILL, 2005). Além disso, a inflamação pode ser classificada em dois tipos principais de acordo com a sua velocidade de instalação. O primeiro tipo é caracterizado pela inflamação aguda, que se estabelece rapidamente, como por exemplo, após um acidente em que o dano aos tecidos ocorre de repente. Já a inflamação crônica se instala de forma lenta e insidiosa, como ocorre com as doenças reumáticas, por exemplo.

A inflamação está envolvida na patogênese de muitas doenças, incluindo as doenças cardiovasculares (RUS *et al.*, 1997), aterosclerose (PAOLETTI *et al.*, 2004), artrite (FIRESTEIN, 2006), doença neurodegenerativa (KLEGERIS *et al.*, 2007), diabetes mellitus (LIBBY e PLUTZKY, 2007), câncer, asma, algumas doenças cutâneas como dermatites e psoríase (MUELLER, 2006; DEBENEDICTS *et al.*, 2001; ROBERT e KUPPER, 1999), entre outras. Portanto, existe um reconhecimento crescente de que o papel da inflamação é cada vez mais importante em um amplo espectro de doenças.

Após uma lesão ou um estímulo, uma cascata de eventos é desencadeada resultando no aumento do calibre microvascular, aumento da permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos e diversos mediadores pró-inflamatórios (NICKOLOFFI e NESTLE, 2004; SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004), que podem ser liberados tanto pelas células residentes do tecido cutâneo quanto pelas células transientes (neutrófilos, linfócitos e monócitos), e incluem os metabólitos do ácido araquidônico (AA), serotonina, histamina,

substância P, óxido nítrico (NO), citocinas, espécies reativas de oxigênio (ROS), entre outras (SIMMONS, 2006; KUPPER, 1990).

A serotonina, quando ligada aos seus receptores, ocasiona a liberação de neuropeptídeos como a substância P e a produção e ativação de mediadores químicos como a bradicinina, peptídeo vasoativo capaz de promover ações como a dilatação venular, aumento da permeabilidade vascular e dor (OMOIGUI, 2007; EL SAYAH e CALIXTO, 2003).

A histamina produz sua ação através de receptores específicos de histamina, que são de três tipos principais: H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> e H<sub>3</sub>. Seus principais papéis fisiopatológicos são como estimulante da secreção do ácido gástrico e reações de hipersensibilidade tipo 1, como urticária e febre do feno (RANG *et al.*, 2007). A histamina é capaz de provocar vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, constrição dos vasos mais calibrosos, prurido, aumento do muco respiratório, nocicepção e modulação de mastócitos, eosinófilos, células T e células dendríticas (ZHANG *et al.*, 2007).

As citocinas são responsáveis pelo desenvolvimento da resposta imune celular e humoral, controle da proliferação e diferenciação celular, indução da inflamação e também da cicatrização. A regulação da resposta imune e inflamatória, pelas citocinas, se dá através da interação com receptores específicos presentes nos queratinócitos, células de Langerhans, células endoteliais e linfócitos T infiltrados, promovendo a mobilização de leucócitos a partir do sangue e a ativação de outras células presentes no tecido inflamado (RANG *et al.*, 2007; UCHI *et al.*, 2000; WILLIAMS e KUPPER, 1996).

A produção das prostaglandinas e dos leucotrienos inicia-se com a liberação do AA a partir dos fosfolipídios de membrana, uma reação catalisada pela fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). O ácido araquidônico livre pode ser enzimaticamente metabolizado através de três vias: a das lipoxigenases (LOXs), a partir da enzima 5-lipoxigenase (5-LOX), sendo por essa via metabólica convertido em leucotrienos (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>); a das epoxigenases F-450 na qual produz ácidos hidroperoxieicosatetraenoicos (HPETEs) e epóxidos; e a via das ciclooxigenases (COXs), dando origem as prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos. Sendo assim, o AA uma vez liberado serve de substrato para as duas isoformas da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), onde é convertido em prostaglandinas (PG) e tromboxanos (TX) (PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub>) (SHERWOOD e TOLIVER-KINSKY, 2004; LEE *et al.*, 2003; HARIZI *et al.*, 2008) (Figura 1). Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) irão inibir a COX

impedindo a formação da prostaglandina e, conseqüentemente, das prostaciclina e dos tromboxanos, que são mediadores inflamatórios.

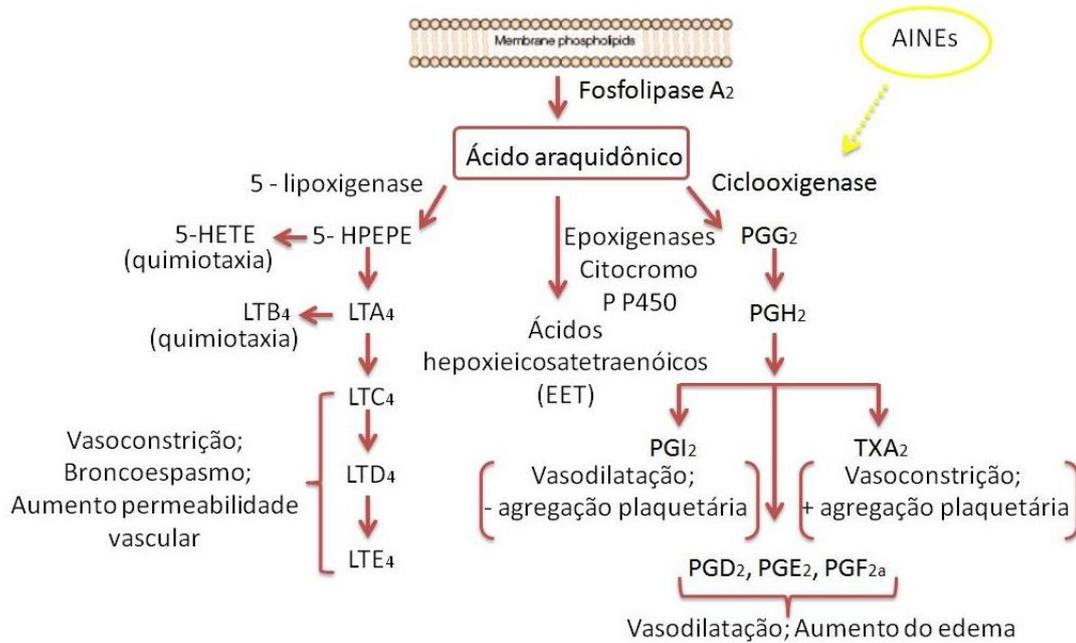


Figura 1: Metabolismo ácido araquidônico (AA). O ácido araquidônico presente nos fosfolípidos de membrana é liberado pela ação da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). O AA livre pode gerar metabólitos (eicosanóides), em reação catalisada pela ação das enzimas ciclooxygenases (COX) ou lipoxigenases (LOX). O ácido araquidônico é convertido em prostaglandina PGH<sub>2</sub> pelas COX-1 e COX-2. As isoenzimas catalisam dois passos de reação, primeiro ciclizando o ácido araquidônico a forma PGG<sub>2</sub> e depois reduzindo a forma PGH<sub>2</sub>. PG sintases catalisam a conversão de PGH<sub>2</sub> em produtos finais biologicamente ativos incluindo PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> e troboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Além disso, o AA pode ser metabolizado por diferentes lipoxigenases e convertidos a ácidos hidroxieicosanóides (HETEs) e leucotrienos (LTs). O passo inicial é a oxidação do AA a um intermediário instável LTA<sub>4</sub> pela enzima 5-LO. LTA<sub>4</sub> pode ser hidrolisado e formar LTB<sub>4</sub>, ou conjugado com a glutatona formando LTC<sub>4</sub>, que por sua vez é convertido em LTD<sub>4</sub> e LTE<sub>4</sub> pelo metabolismo extracelular. (Adaptado de RAO e KNAUS, 2008; ROCCA e FITZGERALD, 2002).

As PGs e os LTs são potentes mediadores com atividade biológica na patogênese de diversas doenças inflamatórias. Eles podem atuar como moléculas pró-inflamatórias, quimiotáticas, fatores de agregação plaquetária e também provocar o aumento da permeabilidade vascular (HARIZI *et al.*, 2008). Porém, sob condições fisiológicas, os prostanóides desempenham funções como citoproteção da mucosa gástrica através da

produção de muco e redução da secreção gástrica, manutenção da homeostasia sanguínea e função renal, entre outros (PATRIGNANI *et al.*, 2005; RAO e KNAUS, 2008).

De acordo com SAMAD *et al.*, (2002), parecem haver duas formas de “comunicação” entre o tecido inflamado e o sistema nervoso central (SNC). A primeira é mediada pela atividade elétrica nas fibras dos nervos sensibilizados que inervam a área inflamada, a qual sinalizam a localização do tecido inflamado, bem como o início, duração e natureza de qualquer estímulo aplicado a este tecido. Já a segunda é um sinal humoral proveniente do tecido inflamado, que atua para produzir uma ampla indução de COX-2 no SNC.

## **1.2 Nocicepção**

Segundo o Comitê de Taxonomia da Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP, 1994), a dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual real ou potencial. Segundo OLIVEIRA (1979) a dor é um alerta que o SNC utiliza para sinalizar um processo de agressão ao organismo com risco para sua integridade física. Este alerta é capaz de desencadear um conjunto de reações de adaptação, de ordem psicológica, autonômica e motora, visando preservar o organismo da causa da agressão (MILLAN, 1999; WOOLF e MANNION, 1999; VITOR *et al.*, 2008). A dor manifesta-se com intensidade diferente entre os indivíduos, podendo variar de acordo com o sexo, a idade e estado de humor (FAUCETT e LEVINE, 1991; GANONG, 1988; BERKLEY, 1999; CHAPMAN e GAVRIN, 1999; SHARP, 2001).

A dor, de acordo com o tipo de lesão e/ou mediadores envolvidos, pode ser denominada em nociceptiva, que se origina devido à estimulação excessiva dos nociceptores localizados na pele, vísceras e outros órgãos; neurogênica, que reflete o dano de tecido neuronal, na periferia ou no sistema nervoso central; neuropática, que acontece devido a uma disfunção ou dano de um nervo ou grupo de nervos e, psicogênica, que não é oriunda de uma fonte somática identificável e que pode refletir fatores psicológicos. Além disso, podem ocorrer manifestações dolorosas decorrentes de algumas desordens como a hiperalgesia (sensibilidade exacerbada a um estímulo doloroso), alodinia (dor em resposta a um estímulo não-doloroso) e hiperestesia (sensibilidade anormal a um estímulo sensorial) (MILLAN, 1999; BESSON e CHAOUCH, 1987; DRAY *et al.*, 1994; BESSON, 1999; CARR e GOUDAS, 1999). Considerando a duração da sua manifestação, a dor pode se apresentar nas

formas transitória, aguda ou crônica. Na dor transitória, a ativação dos nociceptores acontece na ausência de qualquer dano tecidual e contribui para proteger o organismo de potenciais danos físicos, causados pelo ambiente ou por estresse de tecidos corporais. A dor aguda é uma resposta causada por uma lesão de tecido com consequente ativação dos nociceptores, no local da lesão, caracterizando-se por ser de curta duração, desaparecendo, até mesmo, antes da cura do dano tecidual. Normalmente é de fácil identificação e tratamento (LOESER e MELSACK, 1999; BRENNAN *et al.*, 2007). Já a dor crônica é causada por uma lesão tecidual ou doença e geralmente ultrapassa o tempo de recuperação do organismo. Este tipo de dor pode se estender por meses ou anos e é de difícil identificação (BRENNAN *et al.*, 2007; TRACEY e MANTYH, 2007).

A transmissão da dor envolve uma interação complexa de estruturas periféricas e centrais. Um nervo periférico consiste em axônios de três diferentes tipos de neurônios incluindo os neurônios sensoriais primários, motores e pós-ganglionares simpáticos. As terminações livres de fibras aferentes primárias sensíveis a estímulos nocivos são chamados de nociceptores (MILLAN, 1999). Os nociceptores são estruturas não mielinizadas, ramificadas e estão presentes nas terminações sensoriais dos tecidos periféricos. Eles sinalizam quando o tecido corporal está sofrendo injúria ou em risco de sofrer lesão (CESARE e MCNAUGHTON, 1997; VITOR *et al.*, 2008). Além disso, podem ser ativados por diferentes estímulos, tais como mudança de temperatura (estímulo nocivo térmico), diferença osmótica ou distensão tecidual (estímulo nocivo mecânico), hipóxia ou lesão tecidual seguida de inflamação (estímulo nocivo químico) (CESARE e MCNAUGHTON, 1997; BASBAUM *et al.*, 2009; JULIUS e BASBAUM, 2001).

Os nociceptores ativados geram estímulos que são conduzidos à medula através das fibras aferentes periféricas A-delta ( $A\delta$ ) e C (SAWYNOK, 2003). As fibras  $A\delta$  são de condução rápida (10-30 m/s) e pouco mielinizadas, já as fibras C conduzem o impulso lentamente (0,5-2 m/s) e não são mielinizadas. Além dessas, outro tipo de fibra que pode estar envolvida na transmissão do estímulo sensorial são as fibras do tipo  $A\beta$ , que normalmente respondem a estímulos inócuos, aplicados à pele, que em condições especiais são capazes de conduzir rapidamente o estímulo doloroso (30-100 m/s) (BESSON, 1999; MILLAN, 2002; JULIUS e BASBAUM, 2001) (Figura 2). As fibras  $A\delta$  são responsáveis pela condução da “primeira dor” que se caracteriza por ser rápida, aguda e pontual, enquanto que as fibras C transmitem a

“segunda dor”, caracterizada como atrasada, difusa e fraca (JULIUS e BASBAUM, 2001; MEYER *et al.*, 2008).

<b>Tipos de fibras</b>	<b>Fibras A<math>\alpha</math> e A<math>\beta</math></b>	<b>Fibras <math>\delta</math></b>	<b>Fibras C</b>
<b>Mielinização</b>	Muita	Pouca	Ausente
<b>Diâmetro</b>	10 $\mu\text{m}$	2 – 6 $\mu\text{m}$	0,4 – 1,2 $\mu\text{m}$
<b>Velocidade de condução</b>	30 – 100 m/s	10 – 30 m/s	0,5 – 2 m/s
<b>Tipo de sinal</b>	Propriocepção Toque leve	Nocicepção (térmica, química e mecânica)	Nocicepção (térmica, química e mecânica)

Figura 2: Representação esquemática dos diferentes tipos de neurônios sensoriais primários. (Retirado de JULIUS e BASBAUM, 2001).

Para transmissão da dor, os nociceptores primários fazem uma sinapse no corno dorsal da medula espinhal com neurônios de segunda ordem, em lâminas distintas (BASBAUM e JESSELL, 2000) (fibras C – lâminas I e II, fibras A $\delta$  – lâmina V e fibras A $\beta$  – lâminas III, IV e V) (BASBAUM *et al.*, 2009), na substância gelatinosa (SG) da medula espinhal e os neurônios de segunda ordem cruzam a medula espinhal para ascender o trato espinotalâmico, projetando suas fibras terminais principalmente ao tálamo. No tálamo, neurônios de terceira ordem emitem axônios através da cápsula interna ao córtex somatosensor, onde a somatização do estímulo nocivo ocorre, ou emitem axônios ao giro cingulado anterior, onde existe o componente emocional da dor (RUSSO e BROSE 1998; VITOR *et al.*, 2008) (Figura 3). O tálamo desempenha um papel fundamental na integração do impulso doloroso (FURST, 1999). Esta transmissão da dor representa sua via clássica ascendente (BESSON, 1999; JABBUR e SAADÉ, 1999).

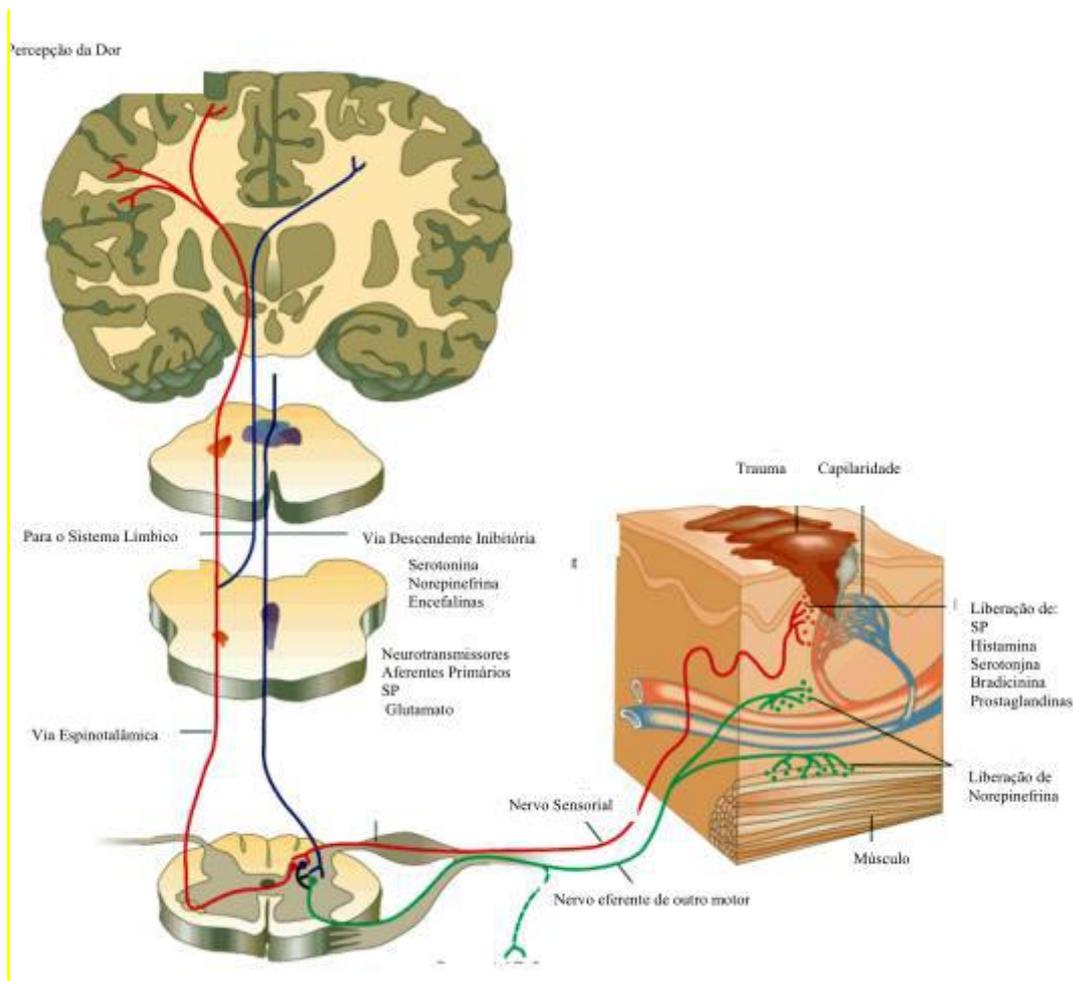


Figura 3: Vias de transmissão e percepção da dor. As fibras nervosas aferentes, constituídas por neurônios receptores ou sensitivos são ativados por estímulos mecânicos, térmicos ou químicos, transmitindo os impulsos para zonas específicas da medula espinhal onde convergem e são enviadas ao tálamo, região do cérebro onde a dor é processada. Na via descendente inibitória as fibras originam-se do tronco encefálico e atuam através de inibição de interneurônios excitatórios ou por estimulação de interneurônios inibitórios.  
(Fonte:<http://www.rehabilitacionpremiummadrid.com/>. Acesso em 15 de maio de 2014).

Existe também uma modulação descendente da nocicepção. As vias descendentes originam-se no tronco cerebral e outras estruturas como hipotálamo, córtex, tálamo, substância cinzenta periaquedutal (PAG) e estruturas adjacentes da medula rostroventromedial (RVM), que exercem importante papel na integração e modulação das mensagens nociceptivas, no corno dorsal da medula espinhal (MILLAN, 2002; VANEGAS e SCHAIBLE, 2004). Os mecanismos descendentes modulam a resposta nociceptiva por exercer suas ações em nociceptores presentes nas fibras aferentes primárias, bem como em neurônios intrínsecos do corno dorsal, como interneurônios excitatórios, interneurônios inibitórios e neurônios de projeção (MILLAN, 2002).

A dor se manifesta de diferentes formas e por isso não pode ser entendida ou tratada como uma entidade única (BESSION, 1999). Cada tipo de dor possui mecanismos próprios e necessita de manejo específico. A compreensão destes mecanismos, dos mediadores envolvidos e das adaptações que o organismo sofre, são importantes para o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos que atuem no controle específico deste sintoma.

Na terapia da dor existem duas classes principais de drogas analgésicas: os opióides e os anti-inflamatórios não-esteroidais. Os opióides podem ser classificados como agonistas, agonistas-antagonistas e antagonistas, diferindo nos mecanismos de ação e ações farmacológicas de acordo com o receptor e suas características. O sistema opióide foi caracterizado pela presença de três principais receptores e subtipos acoplados à proteína G: mi ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) e delta ( $\delta$ ) (FERREIRA e FACCIONE, 2005; OMS, 2007). Eles diferem entre si por diferentes afinidades aos ligantes opióides endógenos e também aos fármacos opióides exógenos. A ativação dos receptores opióides  $\mu$ ,  $\kappa$  e  $\delta$  nos neurônios endógenos leva a inibição da atividade da adenilciclase levando a uma redução da concentração intracelular de adenosina monofosfato cíclico (AMPC), a abertura dos canais de  $K^+$ , causando a hiperpolarização do neurônio nociresponsivo, com conseqüente redução da excitabilidade e o bloqueio da abertura dos canais de  $Ca^{2+}$  voltagem- dependentes, inibindo a liberação do glutamato e da substância P pelos terminais aferentes primários. Estes são os mecanismos que explicam o bloqueio opióide da liberação de neurotransmissores e da transmissão da dor em várias vias neuronais (FERREIRA e FACCIONE, 2005). A naloxona é um exemplo de medicamento que bloqueia os efeitos da morfina, atuando como antagonista nos receptores opióides (OMS, 2007). Sua maior indicação reside no antagonismo dos efeitos colaterais dos narcóticos utilizados em anestesia geral (IMBELONI, 1989), sendo também especialmente útil na prevenção de recaídas ao bloquear todos os efeitos dos opiáceos (OMS, 2007).

A maioria dos opióides usados clinicamente exercem seus efeitos através dos receptores  $\mu$  e caracterizam-se por apresentarem efeitos terapêuticos benéficos. No entanto, também estão associados a graves efeitos adversos/tóxicos quando administrados em doses excessivas. Entre os efeitos colaterais dos opióides, um dos mais importantes clinicamente é a constipação que ocorre em mais da metade dos pacientes (KURZ e SESSLER, 2003), sendo quase sempre refratária ao tratamento com laxativos, o que pode limitar o

controle eficaz da dor (GLARE e LICKISS, 1992; FALLON e HANKS, 1999). Além disso, o prurido é ocorrência comum, sobretudo quando opióides são usados por via parenteral e no neuroeixo. Seu efeito antitussígeno pode ser terapêutico, mas também pode ser problemático no período perioperatório. O desenvolvimento de retenção urinária, náuseas e vômitos, redução do esvaziamento gástrico, constipação e a possibilidade de desenvolvimento de tolerância e dependência, costumam limitar o uso desses fármacos (WALSH, 1984; GLARE e LICKISS, 1992). Por esses motivos, torna-se necessária a busca por substâncias com potencial analgésico que possam dar origem a novos fármacos com menores efeitos adversos e tenham menores custos.

### **1.3 Fármacos anti-inflamatórios Esteroidais (AIEs) e Não Esteroidais (AINEs)**

O uso de substâncias químicas para tratar a inflamação e a dor é uma das necessidades mais antigas da humanidade. Desde o isolamento da salicilina da espécie *Salix alba* e da demonstração dos seus efeitos antipiréticos em 1829 por Leraux, um longo caminho de pesquisa vem sendo trilhado. O salicilato de sódio foi usado para tratar a febre reumática como agente antipirético e no tratamento da gota em 1875. O enorme sucesso do fármaco levou à produção do ácido acetilsalicílico (AAS), em 1898, por Felix Hoffmann. Depois de demonstrado seu efeito anti-inflamatório, este medicamento foi introduzido na Medicina em 1899 por Dresser, com o nome de aspirina (MONTEIRO *et al.* 2008). Em 1900, a indústria Bayer produziu 4,2 toneladas deste fármaco. A partir daí, novos fármacos foram desenvolvidos, formando então a classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (MONTEIRO *et al.*, 2008).

Os AINEs são caracterizados como ácidos orgânicos fracos que atuam principalmente nos tecidos inflamados e inibem a ciclooxigenase (COX). Eles estão entre as classes de medicamentos mais prescritas (MONTEIRO *et al.*, 2008). Porém, apresentam algumas limitações com relação à sua potência, eficácia e efeitos adversos (PARENTE, 2000; FIORUCCI *et al.*, 2001). Os anti-inflamatórios não-esteroidais fazem parte de um grupo heterogêneo de compostos, que mesmo não estando quimicamente relacionados, compartilham algumas ações terapêuticas como propriedades analgésica, antitérmica, anti-inflamatória e antitrombótica (ROBERTS e MORROW, 2001). Praticamente todos os AINEs são analgésicos e antipiréticos, variando o grau de atividade anti-inflamatória. Como analgésicos geralmente

são eficazes para dor de intensidade leve a moderada, sendo a sua principal vantagem, a ausência de dependência física ou psíquica com o uso prolongado, quando comparados aos opióides. Como antitérmicos reduzem a temperatura corpórea nos estados febris (ROBERTS e MORROW, 2001). No entanto, a principal ação dos AINEs são como agentes anti-inflamatórios. Alguns medicamentos possuem forte ação anti-inflamatória, como a indometacina e o piroxicam. Outros possuem atividade anti-inflamatória moderada como o ibuprofeno e a nabumetona e ainda há os que possuem ação anti-inflamatória mínima, como o paracetamol (RANG *et al.*, 2007).

Há três isoformas de COXs descritas, são elas: a COX-1, expressa constitutivamente pela maioria dos tecidos, atuando na síntese de PGs e TXs; a COX-2, expressa de maneira constitutiva no cérebro, rins, endotélio vascular, testículos, SNC e durante processos inflamatórios (RAO e KNAUS, 2008; LI *et al.*, 2008) e a COX-3, uma variante do gene da COX-1, através da ocorrência de um *splicing* alternativo. Sabe-se que esta isoforma é mais abundante no coração e no córtex cerebral, porém esforços vem sendo realizados a fim de se obter maiores informações a respeito de sua função e modulação (BAZAN e FLOWER, 2002). Os AINEs são divididos em não seletivos e COX-2 seletivos. Os AINEs não seletivos, como a indometacina, o diclofenaco, o ibuprofeno, entre outros, apresentam efeitos gastrointestinais adversos, como ulceração e intolerância gástrica, além disso, podem ocasionar náuseas e vômitos, hipertensão, hepatotoxicidade, inibição da função plaquetária e alteração da função renal, como hipercalemia, hiponatremia, ou mesmo o desenvolvimento de falência renal aguda, síndrome nefrótica e necrose papilar aguda (PARENTE, 2000; BOERS, 2001; WHELTON, 2001). A fim de se evitar esses efeitos adversos gastrointestinais causados pelos inibidores da COX-1, foram introduzidos no mercado os inibidores seletivos para COX-2. Os primeiros AINEs seletivos para esta isoforma foram o celecoxibe e o rofecoxibe. Outros fármacos também mostram ser mais seletivos para COX-2 do que para COX-1, como por exemplo, nimesulida e etodolaco (BOTTING, 2006). Entretanto, apesar da diminuição na incidência de complicações gástricas estes fármacos podem causar doenças cardiovasculares e renais. Além disso, em doses altas também são capazes de causar danos gastrointestinais (BRICKS e SILVA, 2005).

Inúmeros trabalhos têm sido publicados sobre a toxicidade cardiovascular dos diversos AINES, especialmente dos inibidores seletivos da COX-2. O mecanismo responsável

pela toxicidade cardiovascular destes inibidores deve-se à ruptura no balanço da prostaciclina e do tromboxano A<sub>2</sub>. A prostaciclina é vasodilatadora e inibe a agregação plaquetária e a proliferação vascular, enquanto que o tromboxano A<sub>2</sub> provoca agregação plaquetária e vasoconstrição. As plaquetas que expressam somente COX-1 são produtoras primárias do tromboxano A<sub>2</sub>, e as células endoteliais produzem a prostaciclina em resposta a COX-2. Os AINES que inibem tanto COX-1 como COX-2, mantêm certa homeostase entre a prostaciclina e o tromboxano A<sub>2</sub>. Já os inibidores seletivos de COX-2 inibem predominantemente a prostaciclina, desviando o balanço em favor do tromboxano (HILÁRIO *et al.*, 2006).

No ano de 2004, devido ao aumento de vítimas com problemas cardiovasculares, como por exemplo, aumento na taxa de infarto do miocárdio e eventos tromboembólicos adversos (ARAUJO *et al.*, 2005), o rofecoxib (Vioxx®) foi retirado do mercado. Desde então, as bulas dos inibidores seletivos da COX-2 são obrigadas a prevenir o paciente do risco de efeitos colaterais cardiovasculares (BOTTING, 2006). Além disso, recentemente, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aumentou o controle sobre a venda dos AINEs seletivos para COX-2, publicando a inclusão de seus fármacos na lista de substâncias sob controle especial (Lista C1 da Portaria 344/98) - Resolução RDC nº. 79, de 04 de novembro de 2008. Desta forma, os anti-inflamatórios só podem ser vendidos com retenção da receita médica pelo estabelecimento farmacêutico (ANVISA, 2008).

No que diz respeito aos anti-inflamatórios esteroidais (AIEs), os corticóides são geralmente classificados de acordo com sua potência relativa na retenção de sódio, efeitos sobre o metabolismo de carboidratos e efeitos anti-inflamatórios. Os corticoides são divididos em glicocorticóides e mineralocorticóides (ANDRADE, 2002). As propriedades anti-inflamatórias dos glicocorticóides são significantes. Esses hormônios são capazes de estabilizar as membranas lisossômicas, diminuir a síntese de colágeno, bem como aumentar a sua degradação e inibir a proliferação de fibroblastos (BANKS, 1992). Os glicocorticóides, após serem sintetizados pelo córtex adrenal, são secretados e levados através da circulação sanguínea aos órgãos-alvo para exercerem suas ações (DÓREA, 2006). Eles estabilizam as células da membrana endotelial e inibem a produção de fatores de quimiotaxia locais, diminuindo então a infiltração de neutrófilos, monócitos e linfócitos (GREGORY, 2000). Os glicocorticóides possuem um amplo espectro de aplicações clínicas como, por exemplo, de

forma substitutiva em casos de insuficiência adrenocortical, no diagnóstico da síndrome de Cushing, no tratamento de tumores, doenças vasculares, alérgicas, dermatológicas, gastrointestinais, pulmonares, hematológicas e inflamatórias. Assim, os glicocorticóides têm seu papel central no tratamento de doenças nas quais estejam envolvidos mecanismos imunes e inflamatórios (SCHIMMER e PARKER, 2007)

Em quantidades supra-fisiológicas, os glicocorticóides provocam fraqueza, redução da massa muscular, osteoporose, hipotireoidismo, interrupção do crescimento (em crianças), intolerância aos carboidratos (resistência à insulina, hiperinsulinemia, tolerância à glicose anormal, diabetes mellitus), características da Síndrome de Cushing (fácies em lua cheia, pletora facial, obesidade central, giba, acne, pele fina e frágil, estrias violáceas), irregularidade menstrual, impotência, hipocalcemia, alcalose metabólica, calculose renal, infiltração gordurosa do fígado, hepatomegalia, entre outras. Além disso, insuficiência adrenal aguda pode ser provocada devido a uma interrupção abrupta após um tratamento prolongado (CHROUSOS, 2006; SCHIMMER e PARKER, 2007; GUYTON e HALL, 2006).

Os corticosteroides inibem a síntese de citocinas, como interleucina 2 (IL-2) e o interferon- $\gamma$ , a secreção de interleucina 1 (IL-1) e a expressão de moléculas de antígenos leucocitários humanos (HLA), glicoproteínas envolvidas na regulação da resposta imune, de classe II e de moléculas de adesão pelas células endoteliais (CRUZ e CARVALHO, 2006; OLIVEIRA e SELL, 2002). O tratamento prolongado com esteróides provoca enfraquecimento dos ossos, tecidos conjuntivos e atrofia das glândulas supra-renais, devido à inibição da liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) pela hipófise (JANEWAY e TRAVERS, 1997). Além disso, em altas doses, os corticosteróides são imunossupressores (WEBSTER, 2005).

Assim, torna-se necessária a busca por substâncias com potencial anti-inflamatório que possam dar origem a novos fármacos que possuam menores efeitos adversos e sejam mais seletivos.

#### **1.4 Produtos Naturais: Fonte de novos fármacos**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de três quartos da população mundial utilizam recursos vegetais de forma frequente para o tratamento de diversas patologias (DUBEY *et al.*, 2004). Muitos dos produtos naturais têm importante

aplicação no desenvolvimento de novos fármacos e terapias medicamentosas. No ano de 2012, NEWMAN e CRAGG avaliaram a contribuição dos produtos naturais no desenvolvimento de fármacos no período entre 1981 e 2010, demonstrando que dentro desse período foram descobertos 1130 novos fármacos oriundos dessa fonte, considerando desde o uso da molécula isolada até vacinas e farmacóforos de moléculas sintéticas que foram originadas de produtos naturais.

Os produtos naturais, especialmente aqueles originados de plantas terrestres, são uma fonte tradicional de novas moléculas. Atualmente, cerca de 25-30% dos todos os fármacos disponíveis são produtos naturais ou derivados de produtos naturais, os quais representam uma valiosa fonte de novas entidades químicas (CALIXTO, 2005). Além das plantas, fungos, bactérias, insetos e organismos marinhos também são considerados umas das principais fontes de substâncias biologicamente ativas (BARREIRO e BOLZANI, 2009).

As plantas produzem uma enorme variedade de compostos químicos, que podem ser divididos em dois grupos, os metabólitos primários e os metabólitos secundários. O metabolismo primário é considerado como uma série de processos envolvidos na manutenção do desenvolvimento e sobrevivência da planta. Já o metabolismo secundário possui importante função para a sobrevivência da planta e sua competição no ambiente (DIXON, 2001). Os produtos secundários compreendem uma riqueza de compostos denominados de “princípios ativos” que possuem diversas propriedades biológicas e terapêuticas como, por exemplo, a resistência a pestes e doenças, a atração de polinizadores e animais dispersores de sementes, interação com micro-organismos simbiotes. No entanto, a capacidade de síntese e a concentração dessas substâncias variam de planta para planta (TAIZ e ZEIGER, 2002; MENDES 2007). A grande variedade de produtos secundários existentes na natureza vem despertando o interesse de pesquisadores de diversas áreas da ciência a fim da descoberta de moléculas potencialmente úteis ao homem.

Dentre os produtos secundários, os terpenos, são substâncias cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno (BRUNETON, 1995). Os esqueletos dos terpenóides são formados pela condensação de unidades isoprênicas, que podem dar origem a monoterpenos e sesquiterpenos, formados por duas e três unidades de isopreno, respectivamente. Diterpenos, originados da junção de quatro cadeias isoprênicas e os triterpenos, derivados de um composto alifático de 30 carbonos. Além disso, o esqualeno,

que origina os diferentes grupos desse composto (PETIT e DIAS, 1969). Do ponto de vista farmacológico, os triterpenos possuem função hepatoprotetora, antimicrobiana, antiviral, hemolítica, anti-inflamatória e analgésica (MAHATO *et al.*, 1988; LIU, 1995).

Os alcalóides são substâncias orgânicas cíclicas contendo um nitrogênio em estado de oxidação negativo e possuem na sua grande maioria caráter alcalino. São responsáveis por diversas funções nos vegetais, como proteção contra insetos, reserva de nitrogênio, proteção contra raios ultravioleta, entre outras. Muitos destes compostos são utilizados na farmacoterapia, puros ou em associação e também na fabricação de fármacos (VIOLANTE *et al.*, 2009).

Os compostos fenólicos (CF) caracterizam-se pela presença de um ou mais anéis aromáticos ligados a pelo menos um radical hidroxila e/ou outros substitutos e podem ser divididos de acordo com o número de anéis fenólicos presentes e com as estruturas às quais encontram-se ligados. Os CF representam uma grande variedade de substâncias como as lignanas, os ácidos fenólicos e os flavonoides (OLIVEIRA e BASTOS, 2011), que desempenham importante papel na proteção contra danos oxidativos e têm efeitos terapêuticos sobre diversas doenças, como aterosclerose e câncer (FLOREZ *et al.*, 2002).

Entretanto, apesar da importância de estudos a partir de produtos naturais, somente uma pequena parte das espécies de plantas já foram estudadas quanto às suas propriedades químicas e farmacológicas. Do total estimado de espécies de plantas superiores existentes (250.000 – 500.000), apenas cerca de 5% é utilizado (ARIF *et al.*, 2009). Dessa forma, observa-se a importância de novos trabalhos na busca de novas alternativas para o tratamento de doenças inflamatórias, que são de grande impacto na saúde pública.

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

O Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PNRJ) (Figura 4) foi criado dia 29 de abril de 1998 com objetivo de preservar o patrimônio natural. O PNRJ é composto por diversos ecossistemas, possibilitando o desenvolvimento de pesquisas científicas e de programas para fins educacionais, paisagísticos e turísticos. O parque encontra-se localizado na região Norte do Estado do Rio de Janeiro e inclui os municípios de Quissamã, Carapebus e Macaé. Além disso, abrange 14.860 hectares de restinga, com 44 quilômetros de costa e contém ainda lagoas costeiras paralelas ou perpendiculares ao mar e rica biodiversidade

sendo também um grande atrativo para pesquisadores (LACERDA e ESTEVES, 2000; SANTOS *et al.*, 2004; ESTEVES, 2011). O interesse dos cientistas por esta região deve-se a grande biodiversidade da fauna e flora de Jurubatiba. A região é considerada por pesquisadores como a área de restinga mais bem preservada do país, e se encontra praticamente intacta.

A flora do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba é composta por 588 táxons de angiospermas, 31 de pteridófitas, 147 de algas continentais (COSTA e DIAS, 2001), e ainda 55 espécies de briófitas (COSTA e YANO, 1998; COSTA, *et al.*, 2006b).



Figura 4: Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. (Retirado de Macaé em pauta, 2012)

Segundo estimativas da Convenção da Diversidade Biológica (CDB), o Brasil é reconhecido em todo mundo por possuir a maior biodiversidade do planeta, cerca de 20%, além de abrigar o maior número de espécies endêmicas (BARREIRO e BOLZANI, 2009). Portanto, a biodiversidade do Brasil é considerada uma fonte de substâncias biologicamente ativas. Dentre os vários biomas presentes no Brasil, as restingas são particularmente interessantes por abrigarem um mosaico de ecossistemas terrestres, semiaquáticos e aquáticos e comunidades vegetais distintas quanto à fisionomia e composição florística (ESTEVES, 2011). Dentro deste contexto, destaca-se a importância deste estudo no PNRJ, devido a sua enorme biodiversidade, existindo a possibilidade de busca de novos fármacos com atividade anti-inflamatória e/ou analgésica, visto que estão entre as classes de medicamentos mais prescritas em todo o mundo e possuem diversos efeitos adversos.

## **2. JUSTIFICATIVA**

Existe um reconhecimento crescente de que o papel da inflamação é cada vez mais importante em um amplo espectro de doenças. Desta forma, o presente projeto visa contribuir para a questão do tratamento de doenças de grande interesse para a OMS, além de estar em consonância com a realidade atual de resgate do uso dos produtos naturais como fonte de medicamentos, principalmente no Brasil, cuja biodiversidade é uma das maiores do mundo.

O Norte do estado do Rio de Janeiro é uma região que apresenta grande riqueza faunística e florística e, portanto, sua biodiversidade pode ser considerada uma reserva de produtos naturais bioativos. Nesta região está localizado o PNRJ, único parque nacional em área totalmente de restinga, que é considerado um patrimônio natural de grande diversidade, sendo composto por diversos ecossistemas. Entretanto, somente uma pequena parte das espécies de plantas já foi estudada quanto às suas propriedades químicas e farmacológicas.

Cada vez mais tem se estimulado a investigação de produtos naturais para serem utilizados no tratamento de doenças, pois são importantes fontes de substâncias potencialmente terapêuticas. Dessa forma, o Laboratório Integrado de Pesquisa vem estudando várias espécies de plantas presentes no PNRJ com o objetivo de identificar novas fontes de produtos naturais com atividade anti-inflamatória e/ou analgésica, além de enriquecer o conhecimento e a importância da região como fonte de novos fármacos.

## **3. OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivos Gerais**

- Avaliar o potencial farmacológico como anti-inflamatório e/ou analgésico de extratos de espécies vegetais presentes no PNRJ, em modelos clássicos de inflamação e nocicepção.

### 3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito anti-inflamatório e/ou analgésico dos extratos hidroalcoólicos das folhas das espécies *Humiria balsamifera*, *Mandevilla moricandiana*, *Ocotea notata*, *Passiflora mucronata*, *Stachytarpheta schottiana*, *Tapirira guianensis* e *Vitex polygama*, além da fração butanólica de *Mandevilla moricandiana*;
- Realizar estudos *in vivo* em camundongos, em protocolo de dor aguda através dos testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético;
- Realizar estudos *in vivo* em camundongos, em protocolo de dor de origens neurogênica e inflamatória através do teste da formalina.

### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

As espécies vegetais coletadas do PNRJ (Figura 5) foram:

- *Passiflora mucronata* (Passifloraceae)
- *Humiria balsamifera* (Humiriaceae)
- *Vitex polygama* (Lamiaceae)
- *Ocotea notata* (Lauraceae)
- *Mandevilla moricandiana* (Apocynaceae)
- *Tapirira guianenses* (Anacardiaceae)
- *Stachytarpheta schottiana* (Verbenaceae)



*P.mucronata*



*H.balsamifera*



*V.polygama*



*O.notata*



*M. moricandiana*



*T.guianenses*



*S.shottiana*

Figura 5: Espécies vegetais isoladas do PNRJ.

#### 4.2 Animais

Inicialmente foi realizado treinamento para manipulação de camundongos *Swiss*, bem como para o cuidado e manutenção dos animais. As técnicas de segurança laboratorial foram incentivadas com o intuito de prevenir acidentes ocasionados pela falta de cuidados essenciais. Os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética com Animais de Experimentação do Centro de Ciências de Saúde (CEUA/CCS), sob protocolo MACAÉ02.

Para realização dos experimentos, foram utilizados camundongos *Swiss* machos, provenientes do Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé (NUPEM/UFRJ). Os animais foram separados aleatoriamente, tiveram livre acesso à água e

comida e foram mantidos em ciclo 12/12h claro/escuro com temperatura ambiente e umidade controlada.

Todos os experimentos foram realizados no Laboratório Integrado de Pesquisa, situado no Pólo Universitário-Campus UFRJ Macaé.

### **4.3 Obtenção dos extratos**

Os extratos utilizados neste projeto foram gentilmente cedidos pela Prof<sup>a</sup> Michelle Muzitano e pela Prof<sup>a</sup> Ivana Leal, do Laboratório de Produtos Naturais do Campus UFRJ-Macaé. Para os experimentos, foram utilizados extratos hidroalcoólicos de folhas das espécies *Humiria balsamifera*, *Mandevilla moricandiana*, *Ocotea notata*, *Passiflora mucronata*, *Stachytarpheta schottiana*, *Tapirira guianensis* e *Vitex polygama*, além da fração butanólica de *M. moricandiana*.

As partes aéreas das espécies *H. balsamífera*, *M. moricandiana*, *O. notata*, *P. mucronata*, *S. shottiana*, *T. guianenses* e *V. polygama* foram coletadas no mês de fevereiro de 2011 no PARNA Jurubatiba - RJ. A identificação botânica foi realizada pela Dr<sup>a</sup> Tatiana Ungaretti Paleo Konno e as exsiccatas foram depositadas no herbário da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob os números RFA33650, RFA38748, RFA38751, RFA38758, RFA38759, RFA38757 e RFA38750, respectivamente.

As folhas das espécies foram separadas, secas em estufa à 40<sup>o</sup> C com circulação de ar e submetidas ao processo de maceração com etanol/água (8:2) ou etanol 100% (para *H. balsamifera* e *O. notata*) à temperatura ambiente. Posteriormente, os macerados foram filtrados e o solvente removido em evaporador rotatório (Buchi) para obtenção dos extratos brutos. Os extratos brutos foram fracionados através da partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente (hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol) e o resíduo aquoso final foi separado. Os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), em estoques de 10 e 50 mg/ml.

### **4.4 Avaliação do potencial farmacológico**

Os efeitos anti-inflamatórios e analgésicos foram avaliados através de modelos clássicos de inflamação e dor, como o Teste de Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético e Teste da Formalina. Foram utilizados camundongos *Swiss* machos pesando entre

18 e 21 g, separados aleatoriamente nos grupos experimentais. Os extratos/fração foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e utilizados nas doses de 5 e 10 mg/kg via intraperitoneal.

#### 4.5 Atividade Biológica: Efeito Anti-inflamatório

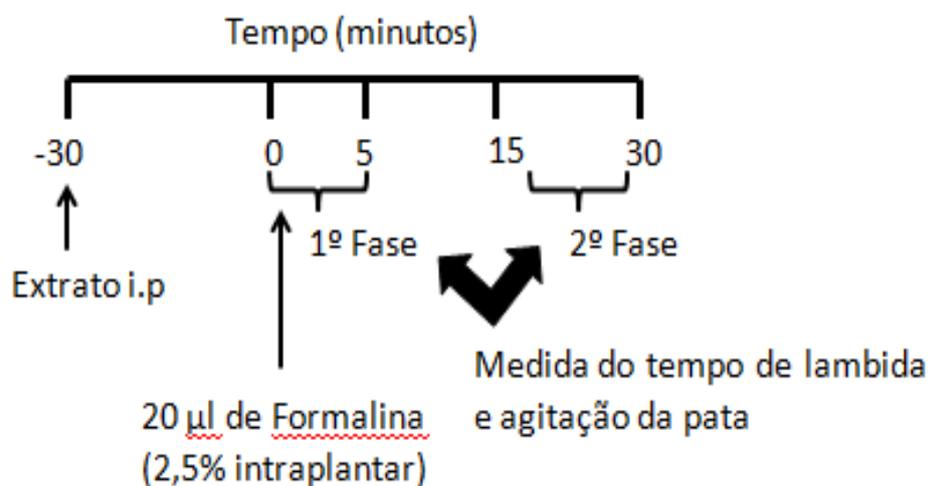
##### 4.5.1 Teste da Formalina

O teste de formalina se diferencia dos demais testes de dor, pois é possível verificar a resposta do animal a uma dor contínua e moderada gerada pelo tecido lesionado. Devido a esta relação com tecido lesionado, acredita-se que este teste produza um modelo mais válido de dor clínica do que os testes de estímulo físico ou de estímulo térmico (FREITAS *et al.*, 2009).

Os procedimentos para esse modelo foram realizados como os já descritos na literatura (HUNSKAAR *et al.*, 1985; TJALSEN *et al.*, 1992; CORRÊA e CALIXTO, 1993). Inicialmente os animais foram pré-tratados por via intraperitoneal com os extratos/fração nas doses de 5 e 10 mg/kg, 30 min antes da injeção de 20 µl de formalina a 2,5% (0,92% de formaldeído, em solução salina) na superfície ventral da pata traseira esquerda do animal. E então, os animais foram observados de 0 a 5 minutos (Fase Neurogênica) e de 15 a 30 minutos (Fase Inflamatória) o tempo em que passou lambendo a pata (Figura 6). Este tempo foi quantificado através de cronômetro. O protocolo experimental seguiu o esquema a seguir (Equema 1).



Fig 6: Injeção intraplantar de formalina 2,5% e reação do animal após a injeção, lambendo a pata.



Esquema 1: Protocolo experimental do modelo de formalina intraplantar em camundongos.

Este teste permitiu avaliar dois tipos de dor: uma de origem neurogênica, como resultado da estimulação direta dos neurônios nociceptivos, observada nos primeiros 5 minutos após a administração da formalina, e outra de origem inflamatória, caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios, observada entre 15 e 30 minutos após a injeção da formalina representando a resposta tônica à dor.

#### 4.6 Atividade Biológica: Efeito Analgésico

##### 4.6.1 Teste de Contorções Abdominais

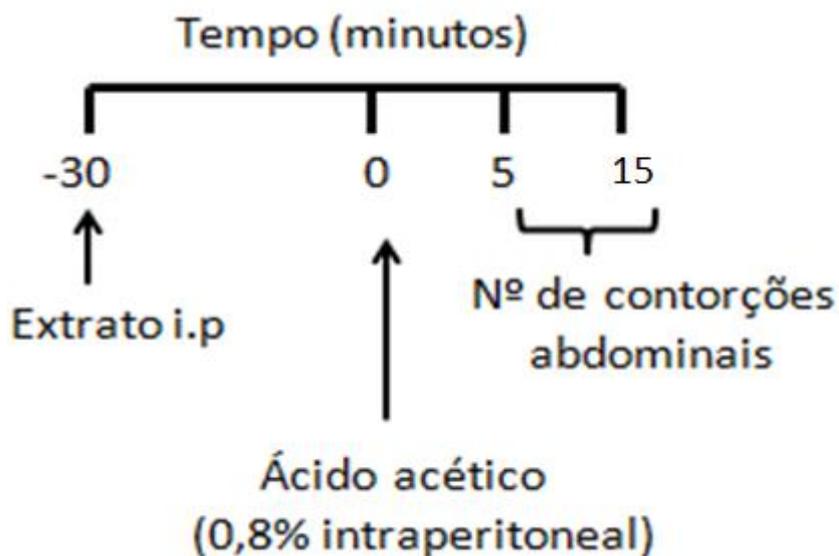
O teste de contorções abdominais tem como objetivo avaliar o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético no animal. Estas contorções consistem na contração do músculo abdominal juntamente com um alongamento dos membros traseiros, em resposta a uma injeção intraperitoneal de ácido acético (0,8 %, 10 ml/kg) (Figura 7) (NONATO *et al.*, 2009). Este é um modelo que permite avaliar a atividade antinociceptiva de substâncias que atuam tanto em nível central quanto periférico.

Para a realização do experimento, os animais foram pré-tratados por via intraperitoneal com os extratos/fração nas doses de 5 e 10 mg/kg, 30 min antes da injeção intraperitoneal do ácido acético. Os animais controle receberam o mesmo volume de veículo (DMSO) (30 µl, por via intraperitoneal). O número de contorções abdominais foi

cumulativamente contados ao longo de um período de 10 minutos. O protocolo experimental seguiu o esquema a seguir (Esquema 2).



Fig 7: Injeção intraperitoneal de ácido acético 0,8% em camundongo e contorção abdominal após a injeção.



Esquema 2: Protocolo experimental do modelo do ácido acético via i.p. em camundongos.

#### 4. 7 Análise Estatística

Os resultados obtidos nos ensaios foram expressos como média  $\pm$  erro padrão média. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Prism 5.0 (GraphPad Software, USA). Para múltiplas comparações foi utilizado o teste análise de variância (One-way - ANOVA), seguido do teste de *Dunnet* para comparação com o grupo controle. As

diferenças entre os grupos foram consideradas estatisticamente significativas quando  $P < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O reino vegetal sempre proporcionou uma grande variedade de medicamentos para os homens, sendo fonte de agentes anti-inflamatórios, analgésicos, antimicrobianos, anti-hipertensivos, entre outros (WEBSTER, 2005). Neste contexto, espécies vegetais do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba foram selecionadas para estudos, após pesquisas bibliográficas, por conterem em suas famílias espécies de plantas que possuem atividade anti-inflamatória e/ou analgésica descritas na literatura.

A diminuição dos efeitos adversos de fármacos originados a partir de espécies vegetais deve-se ao fato das preparações de plantas, por possuírem diversas substâncias em sua composição, frequentemente inibirem mais de uma via de ação, maximizando, conseqüentemente, os efeitos anti-inflamatórios (SCHMITZ e BACHER, 2005; CALIXTO *et al.*, 2004).

A avaliação de uma possível atividade anti-inflamatória e/ou analgésica dos extratos das folhas de *Humiria balsamifera*, *Mandevilla moricandiana*, *Ocotea notata*, *Passiflora mucronata*, *Stachytarpheta schottiana*, *Tapirira guianensis*, *Vitex polygama* e *Tocoyena bullata* foram avaliadas através do modelo da formalina e do ácido acético, que são modelos clássicos de inflamação e nocicepção.

### - *Stachytarpheta schottiana*

*Stachytarpheta schottiana* é utilizada na medicina popular para tratamento de problemas do fígado e contra vermes. No entanto, não há nenhuma atividade biológica descrita na literatura para esta espécie. Outras espécies do mesmo gênero possuem algumas atividades biológicas descritas. As folhas e os caules da espécie *S. cayennensis*, têm sido utilizada na medicina popular como anti-inflamatória, analgésica, antipirética, hepatoprotetora, laxante, hipoglicemiante e no tratamento de distúrbios gástricos (MATHIAS e EMILY, 1993; MESIA-VELA *et al.*, 2004). As folhas dessa mesma planta também são utilizadas popularmente em infusão como estomacal, febrífugo, para tratar doenças crônicas do fígado, gripes, tosse, artrite e também como diurético e sudorífico; e as raízes

são utilizadas como cicatrizante e para tratamento de dores ocasionadas pelo reumatismo (CORRÊA, 1984). A aplicação de folhas e raízes trituradas da *S. cayennensis* são ainda utilizadas no tratamento de lesões de pele (CARIBE e CAMPOS, 1991), inclusive, em lesões ulceradas causadas por *Leishmania* sp (MOREIRA *et al.*, 2002). De acordo com MOREIRA *et al.* (2007), o extrato hidroalcoólico de folhas de *S. cayennensis* possui atividade inibitória tanto para *L. amazonensis* quanto para *L. braziliensis* comprovando sua utilização para o tratamento de lesões ocasionadas por *Leishmania*. A espécie *S. angustifolia* é utilizada popularmente no Sudeste da Nigéria como antibacteriana, auxiliando no tratamento de doenças sexualmente transmissíveis (DSTs). Além disso, possui atividade hipoglicemiante comprovada (ISAH *et al.*, 2007).

Nesse trabalho testou-se o efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. schottiana*. No entanto, este extrato não apresentou efeito analgésico significativo na dose de 10 mg/kg no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético (Figura 8).

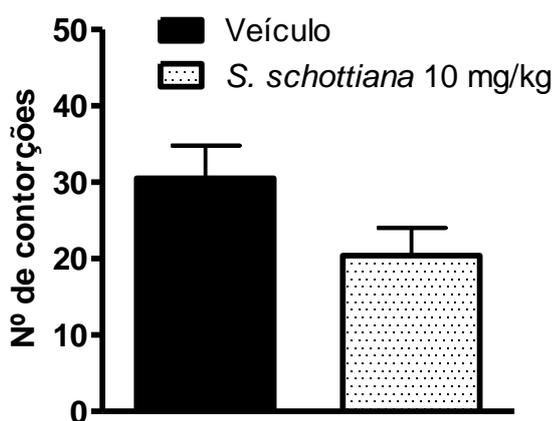


Figura 8: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *S. schottiana* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais).

#### - *Humiria balsamifera*

A espécie *Endopleura uchi*, pertencente à família Humiraceae, possui diversas atividades biológicas descritas na literatura, como por exemplo, atividade anti-inflamatória (POLITI *et al.*, 2007a), antimicrobiana (POLITI *et al.*, 2007b; POLITI, 2009), imunomoduladora (MOREIRA *et al.*, 2007), e efeito na diminuição da motilidade intestinal (HUBINGER *et al.* 2007).

A espécie *Humiria balsamifera* é recomendada para o uso de pasto apícola por promover agradável sabor, aroma e coloração ao mel produzido de suas floradas (MIRANDA, 2005), caracterizada como sendo a preferência alimentar de abelhas durante todo seu período de floração, fornecendo tanto néctar como pólen, contribuindo para manutenção das colméias. De acordo com SILVA *et al.* (2004), os compostos isolados de caules e folhas de *H. balsamifera* possuem atividades antimaláricas.

Neste trabalho testou-se o extrato hidroalcoólico das folhas de *H. balsamifera* a fim de identificar uma possível atividade analgésica e/ou anti-inflamatória. Esta espécie foi testada através do modelo de contorções abdominais induzida por ácido acético. No entanto, o extrato hidroalcoólico não foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético de forma significativa, indicando ausência de efeito analgésico, na dose testada de 10 mg/kg (Figura 9).

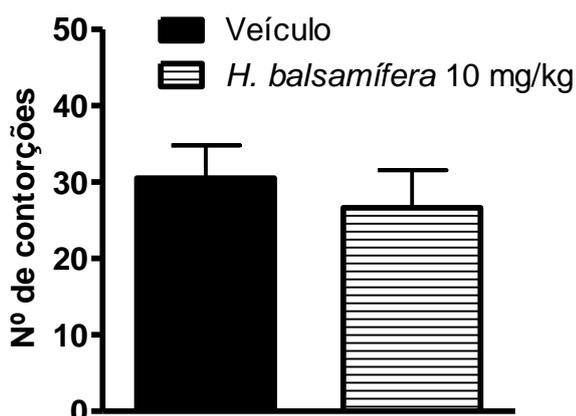


Figura 9: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *Humiria balsamifera* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais).

#### - *Tapirira guianensis*

A população emprega as cascas e folhas de *Tapirira guianensis* para fins ritualísticos (ALMEIDA *et al.*, 2007) e em práticas caseiras da medicina popular, para tratamento de doenças de pele (SOUZA e FELFILI, 2006). Extratos de folhas, sementes e cascas de *T. guianensis* apresentaram atividade citotóxica, sendo promissor seu uso contra diversas linhagens de células tumorais (DAVID *et al.*, 1998; TAYLOR *et al.*, 2006; MAHMOUD *et al.*, 2011). A casca de *T. guianensis* é usada popularmente contra lepra, diarreia e sífilis (BRAGA, 1976). Além disso, a atividade *in vitro* antileishmaniose, antimalárica, antibacteriana e

antifúngica foram detectadas, para três substâncias, isoladas do extrato clorofórmico das suas cascas (ROUMY *et al.*, 2009). Além disso, estudos revelaram que o extrato clorofórmico das sementes de *T. guianensis* apresenta atividade citotóxica contra linhagens de células de câncer de próstata humano (DAVID *et al.*, 1998; CORREIA, 2001). COSTA (2006a) isolou sete substâncias das folhas de *T. guianenses* e identificou que a substância 3a, 7a, Di-hidroxi-2-[(8'Z)-heineicosan-8'-enil]-2,3,3a,7a-tetra-hidro-1-benzofuran-5(4H)-ona (SCJ-8) reduziu o crescimento do tumor da linhagem Sarcoma 180, apresentando potencial antitumoral *in vivo* e inibiu o crescimento celular nas linhagens tumorais humanas *in vitro*, não tendo mostrado atividade hemolítica.

No entanto, nada consta na literatura sobre a possível atividade anti-inflamatória e/ou analgésica desta espécie. Desta forma, testou-se o extrato hidroalcoólico das folhas de *T. guianenses* (Figura 10). Porém, de acordo com o modelo do ácido acético realizado, o extrato não possui atividade analgésica, na dose testada, visto que não foi capaz de reduzir significativamente o número de contorções abdominais.

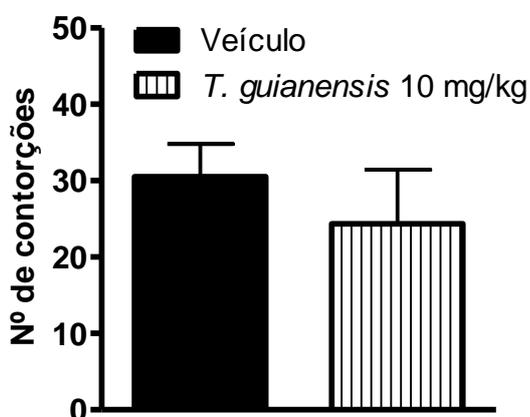


Figura 10: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *T. guianensis* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais).

#### - *Ocotea notata*

Algumas espécies do gênero *Ocotea* vêm sendo intensamente utilizadas como importante fonte da essência de sassafrás, óleo rico em safrol, cujo valor industrial decorre da presença do grupo piperonila em sua molécula, a partir do qual, com pequenas transformações químicas, obtêm-se compostos orgânicos com vasto emprego comercial, como é o caso do piperonal, usado na indústria de fragrâncias e perfumes finos e do

butóxido de piperonila, inseticida natural, com certificação “verde e biodegradável”, sem os riscos dos inseticidas sintéticos (BRAGA *et al.*, 2005; BANDONI e CZEPAK, 2008; MAIA e ANDRADE, 2009). Porém, apesar da grande importância deste gênero, pouco ainda se conhece sobre os constituintes e a atividade biológica da espécie *O. notata*. Dentre as atividades biológicas já determinadas para algumas espécies de *Ocotea*, destacam-se as atividades antioxidante de *O. quixos* e *O. bofo Kunth* (BRUNI *et al.*, 2004; GUERRINI *et al.*, 2006), antialérgica de *O. duckei* (SERRA *et al.*, 1997), depressora do sistema nervoso central de *O. duckei* (PACHÚ *et al.*, 1993; MORAIS *et al.*, 1998; SOUSA *et al.*, 2005), relaxante muscular de *O. macrophylla* (RIBEIRO *et al.*, 2003), hipotensora de *O. duckei* (DIAS *et al.*, 2004), antiprotozoária de *O. lancifolia* (FOURNET *et al.*, 2007), antimicrobiana de *O. usambarensis* (TERREAUX *et al.*, 1994; BRUNI *et al.*, 2004; DE SOUZA *et al.*, 2004). Além disso, espécies como *O. aciphylla* e *O. spectabilis* são utilizadas como tônicos e para tratar dores de estômago (MARQUES, 2001). De acordo com BALLABENI *et al.*, (2007), óleos essenciais de *O. quixos* possuem potente atividade antitrombótica, atribuído a sua ação antiplaquetária e seu efeito vasodilatador, envolvendo bloqueio dos receptores de tromboxano.

Neste trabalho testou-se o extrato hidroalcoólico de *O. notata*, que de acordo com GARRETT *et al.* (2007) possui atividade antibacteriana, observada através da formação de halos de inibição ao redor dos discos frente a cinco cepas de bactérias ATCC, a saber: *Staphylococcus aureus* 25923, *Staphylococcus aureus* 9213, *Staphylococcus epidermidis* 12223, *Enterococcus faecalis* 29212 e *Escherichia coli* 25922. Estudos realizados por COSTA (2010) também indicam que a mistura de flavonóides presentes no extrato de *O. notata* podem ser utilizados no tratamento contra infecções causadas pelo vírus HSV-1 e HSV-2 em humanos. Além disso, de acordo com BORGES *et al.* (2013), os constituintes presentes na fração hexânica e acetato de etila de *O. notata* podem ser promissores agentes contra o *Mycobacterium bovis*.

O extrato hidroalcoólico de *O. notata* (10 mg/kg) não foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético, indicando ausência de efeito analgésico (Figura 11). No entanto, com essa mesma dose observou-se atividade anti-inflamatória dessa espécie, sendo capaz de inibir ambas as fases do teste da formalina (neurogênica e inflamatória) (Figura 12). Os animais controles que receberam o veículo

DMSO apresentaram o tempo de lambida de  $146,0 \pm 7,1$  s e  $493,4 \pm 18,7$  s, nas fases neurogênica e inflamatória, respectivamente. *O. notata* reduziu significativamente esses tempos de lambida para  $75,0 \pm 11,6$  s ( $P < 0,05$ ) e  $168,7 \pm 9,3$  s ( $P < 0,05$ ), respectivamente (Figura 11). Representando, assim, uma redução nos tempos de lambida de 48,6 % na fase neurogênica e 65,8 % na fase inflamatória.

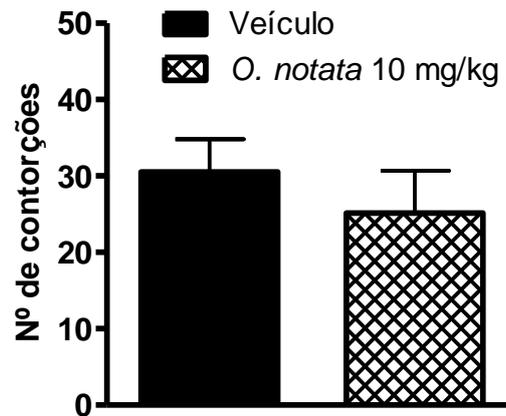


Figura 11: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *O. notata* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais).

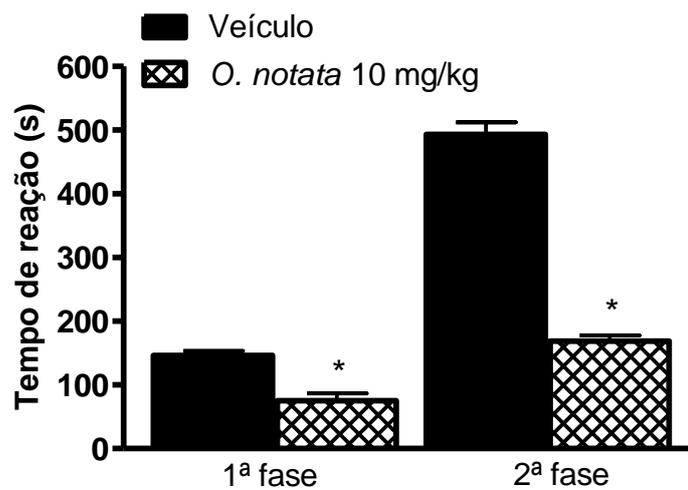


Figura 12: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *O. notata* no teste da Formalina. (n= 4-8 animais; \* $P < 0,05$  comparado ao veículo).

### - *Vitex polygama*

As espécies de *Vitex* têm sido estudadas quanto a sua composição química e quanto as suas atividades biológicas (LEITÃO e SANTOS, 1999; LEITÃO *et al.*, 2011). Existem numerosos estudos científicos com espécies do gênero *Vitex*. A espécie *V. negundo*, é utilizada como anti-helmíntico, anti-fúngico e anti-bacteriano (PATEL *et al.*, 2009). As espécies *V. pyramidata*, *V. pubescens*, *V. agnus-castus* e *V. gaumeri* são utilizadas, popularmente, para tratamento de diarreia e infecções gastrointestinais (AHMAD e HOLDSWORTH, 1995; BAJPAI *et al.*, 1995). *Vitex trifolia* destaca-se por sua ação anti-inflamatória, anti-tripanosossômica e anti-cancerígena (PAUL e SINGH, 1995; ARANDA *et al.*, 1999). Além disso, as espécies *V. glabrata*, *V. trifolia*, *V. leucoxydon*, *V. penduncularis* e *V. pinnata* possuem atividades inseticidas (MEENA *et al.*, 2010). De acordo com LEE *et al.* (2012) a vitexicarpina, um flavonóide isolado da *V. rotundifolia*, apresenta efeito anti-inflamatório em células endoteliais vasculares e atividades antitumoral e analgésica. De acordo com SÁ BARRETO *et al.* (2008) a espécie *V. gardneriana Schauer*, na dose de 1000 mg/kg, possui atividade antinociceptiva comprovada através do modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos.

Em relação à espécie *V. polygama*, os chás dos galhos e frutos são utilizados na medicina popular como emenagogo e diurético. Além disso, o chá das folhas é utilizado para o tratamento de infecções renais, na prevenção de cálculo renal e também na inflamação (GALLO *et al.*, 2006; GALLO *et al.*, 2008).

De acordo com os experimentos realizados neste trabalho, o extrato hidroalcoólico de *V. polygama*, 10 mg/kg, apresentou efeito analgésico significativo no modelo do ácido acético, sendo capaz de reduzir significativamente o número de contorções abdominais. Os animais que receberam apenas o veículo DMSO apresentaram  $30,5 \pm 4,3$  contorções. Já os animais pré-tratados com 10 mg/kg do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. polygama* apresentaram  $12,5 \pm 5,0$  contorções ( $P < 0,05$ ) (Figura 13). Além disso, no teste da formalina, o extrato de *V. polygama*, 10 mg/kg, inibiu significativamente a fase inflamatória do teste (Figura 14), reduzindo o tempo de lambida da pata de  $493,4 \pm 18,7$  s (veículo) para  $12,5 \pm 5,0$  s ( $P < 0,05$ ). Sendo assim ficou comprovada a utilidade de *V. polygama*, pela medicina popular, no tratamento de inflamações.

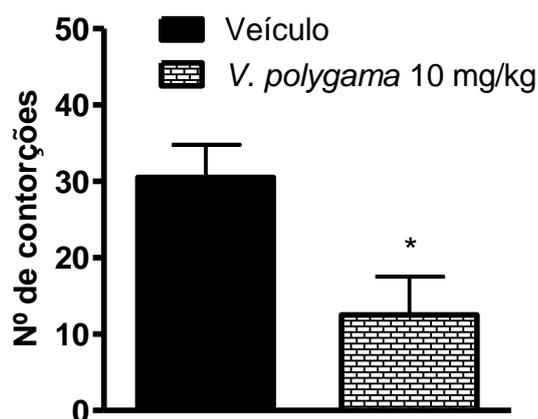


Figura 13: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. polygama* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais).

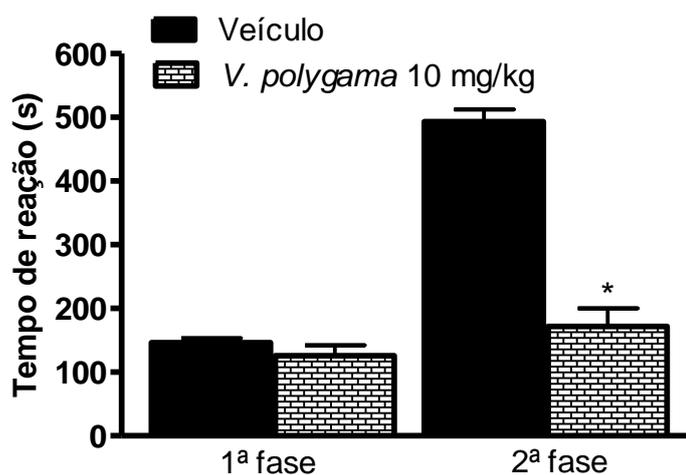


Figura 14: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *V. polygama* no teste da Formalina. (n= 4-8 animais; \*P<0,05 comparado ao veículo).

#### - *Passiflora mucronata*

Em quase todos os países ocidentais, diversas espécies do gênero *Passiflora* são tradicionalmente conhecidas no âmbito da medicina popular. A literatura etnofarmacológica registra o uso das folhas das diversas espécies de *Passiflora* na forma de chá, como um calmante e suave indutor do sono (PIO CORRÊA, 1978; LORENZI e MATOS, 2002). Além disso, o uso das folhas também é indicado para o combate a febres, inflamações cutâneas, sendo ainda consideradas diaforéticas (PIO CORRÊA, 1978). Espécies de *Passiflora*, conhecidas popularmente no Brasil como maracujás, apresentam uso tradicional importante como

ansiolítico e sedativo (DHAWAN *et al.*, 2004). As espécies mais citadas na literatura, para as quais há dados científicos coerentes com o uso popular são *P. actinia*, *P. alata*, *P. edulis*, *P. Incarnatae* e *P. quadrangularis*. Porém, apenas *P. alata* é citada pela Farmacopéia Brasileira, nas suas 1ª, 2ª e 3ª edições. Além disso, é constituinte de diversos medicamentos fitoterápicos comercializados no Brasil, com a indicação de calmante (ANVISA, 2006). Estudo realizado por SASIKALA *et al.* (2011), em camundongos, demonstrou que o extrato etanólico de folhas de *P. foetida*, 200 mg/kg, apresenta atividade analgésica comprovada através do modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético e placa quente. Além disso, na dose de 100 mg/kg, possui efeito anti-inflamatório significativo comprovado através do modelo do edema de pata induzido por carragenina e histamina, em ratos. No entanto, não há estudos realizados com a espécie *P. mucronata* em relação a suas possíveis atividades anti-inflamatórias e analgésicas.

De acordo com as Figuras 15 e 16, verificou-se que *P. mucronata* apresentou atividade analgésica e anti-inflamatória nas doses de 5 e 10 mg/kg. O extrato apresentou efeito analgésico dose-dependente significativo no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, reduzindo significativamente o número de contorções abdominais de  $30,5 \pm 4,3$  (veículo) para  $13,3 \pm 7,9$  e  $3,0 \pm 1,8$ , respectivamente ( $P < 0,05$ ) (Figura 15). Além disso, o extrato de *P. mucronata*, 10 mg/kg, foi capaz de reduzir significativamente o tempo de reação na fase inflamatória de  $493,4 \pm 18,7$  s (veículo) para  $257,0 \pm 52,7$  ( $P < 0,05$ ), não possuindo efeito na fase neurogênica (Figura 16).

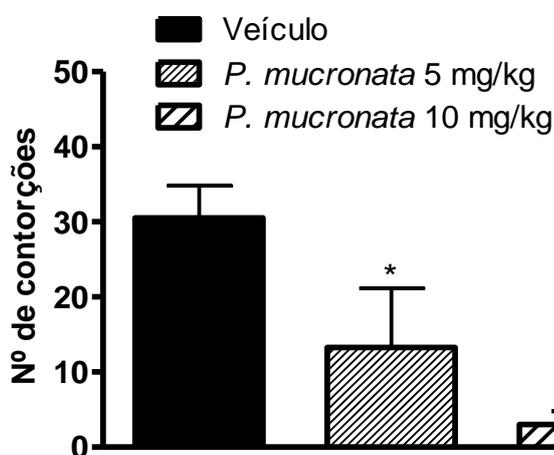


Figura 15: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. mucronata* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais; \* $P < 0,05$  comparado ao veículo).

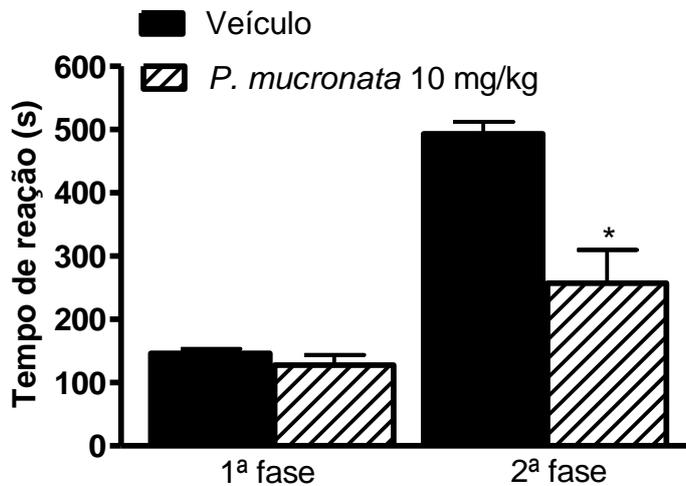


Figura 16: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *P. mucronata* no teste da Formalina. (n= 4-8 animais; \*P<0,05 comparado ao veículo).

#### - *Mandevilla moricandiana*

A infusão ou o extrato alcoólico dos rizomas de *M. velutina* e *M. illustris*, pertencentes à família Apocynaceae, são utilizados, na medicina popular, como anti-inflamatório e também no tratamento de mordida de cobra. Estudos realizados têm demonstrado que o composto Vetulinol A, presente na espécie *M. velutina*, pode representar importantes alternativas antinociceptivas em alguns modelos de dor inflamatória aguda e persistente (MATTOS *et al.*, 2006). Assim, o composto velutinol A ou os seus derivados podem constituir uma molécula atraente de interesse para o desenvolvimento de novos fármacos analgésicos. A espécie *M. coccinea* é utilizada popularmente como analgésica, anti-inflamatória e para inibição dos efeitos de veneno de cobra (DUARTE e LARROSA, 2011). No entanto, até o momento nenhuma atividade analgésica ou anti-inflamatória foi descrita para a espécie *M. moricandiana*. Além disso, estudos realizados com outras espécies deste gênero são mais focados em elucidação estrutural e ensaios baseados em estudos etnobotânicos.

Dessa forma, testou-se os efeitos do extrato das folhas de *M. moricandiana* em modelos clássicos de inflamação e nocicepção. O extrato hidroalcoólico de *M. moricandiana*, nas doses de 5 e 10 mg/kg, apresentou efeito analgésico no modelo de contorções

abdominais induzidas por ácido acético, sendo capaz de inibir significativamente o número de contorções abdominais de  $30,5 \pm 4,3$  (veículo) para  $3,8 \pm 1,8$  ( $P < 0,05$ ) e  $7,2 \pm 3,5$  ( $P < 0,05$ ), respectivamente (Figura 17). Além disso, o extrato de *M. moricandiana*, 10 mg/kg, inibiu significativamente a fase inflamatória do teste da formalina, reduzindo o tempo de reação na fase inflamatória de  $493,4 \pm 18,7$  s (veículo) para  $274,0 \pm 21,5$  s ( $P < 0,05$ ), representando uma redução de 44,5%. Não possuindo efeito na fase neurogênica (1ª fase) (Figura 18).

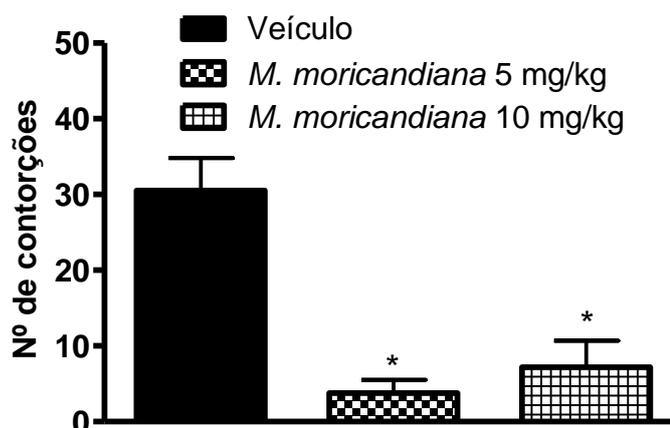


Figura 17: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *M.moricandiana* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais; \* $P < 0,05$  comparado ao veículo).

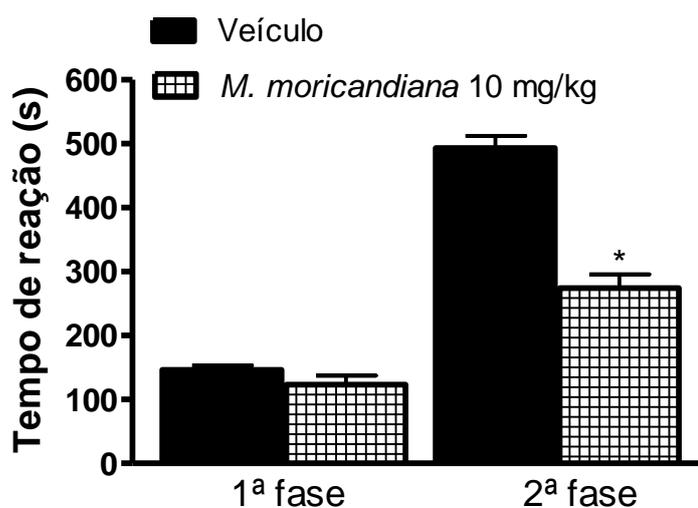


Figura 18: Efeito do extrato hidroalcoólico das folhas de *M.moricandiana* no teste da Formalina (n= 4-8 animais; \* $P < 0,05$  comparado ao veículo).

Como o extrato de *M. moricandiana* foi um dos mais ativos, mostrando-se eficaz tanto no modelo da formalina quanto no modelo do ácido acético, o mesmo foi fracionado e a fração butanólica do extrato, por ser rica em flavonóides, foi escolhida para iniciar os estudos.

A fração butanólica do extrato de *M. moricandiana*, 10 mg/kg, apresentou efeito analgésico significativo no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético, reduzindo o número de contorções para  $2,3 \pm 0,7$  ( $P < 0,05$ ) (Figura 19). Além disso, na dose de 10 mg/kg, inibiu significativamente a fase neurogênica e a fase inflamatória do teste da formalina, reduzindo o tempo de lambida para  $86,2 \pm 14,8$  s ( $P < 0,05$ ) e  $161,8 \pm 46,6$  s ( $P < 0,05$ ), respectivamente. (Figura 20). Desta forma, a fração butanólica do extrato possui grande importância na atividade anti-inflamatória, visto que foi capaz de inibir tanto a fase inflamatória quanto a fase neurogênica do teste da formalina.

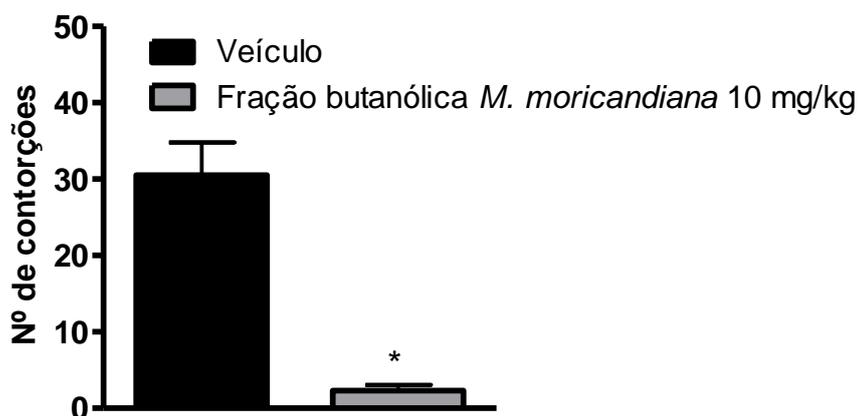


Figura 19: Efeito da fração butanólica de *M. moricandiana* no teste de contorções abdominais (n= 4-8 animais; \* $P < 0,05$  comparado ao veículo).

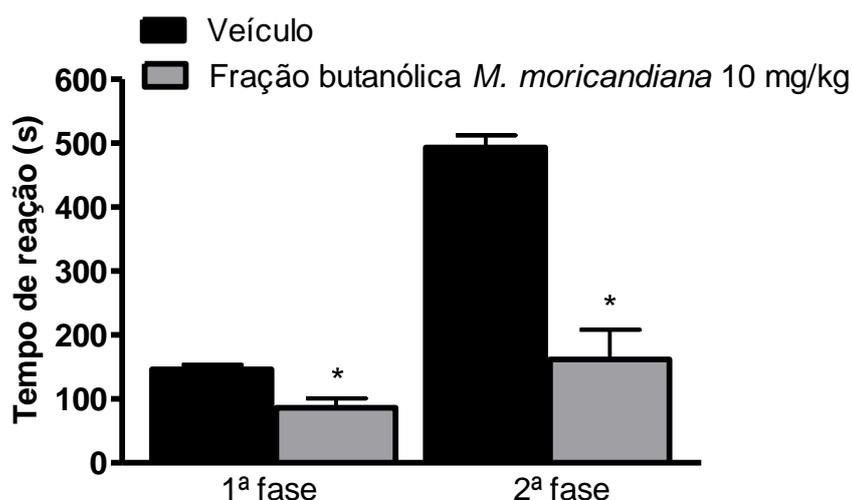


Figura 20: Efeito da fração butanólica de *M.moricandiana* no teste da Formalina (n= 4-8 animais; \*P<0,05 comparado ao veículo).

Em relação ao modelo de contorções abdominais, analgésicos como opióides, antidepressivos tricíclicos, anti-histamínicos, entre outros, são capazes de inibir as contorções induzidas pelo ácido acético (LE BARS *et al.*, 2001). Os extratos de *O.notata*, *S. schottiana*, *H. balsamifera* e *T. guianensis* não apresentaram efeito analgésico significativo nas doses 10 mg/kg. Já os extratos de *V. polygama* (10 mg/kg), *M. moricandiana* (5 e 10 mg/kg) e *P. mucronata* (5 e 10 mg/kg) apresentaram efeito analgésico significativo.

A primeira fase da formalina (Fase Neurogênica) envolve a estimulação química direta das fibras nociceptivas aferentes, provocando dor. Sendo assim, a inibição desta primeira fase pode ser realizada por substâncias que sejam capazes de inibir os nociceptores periféricos localizados na pata do animal ou por fármacos com ação analgésica central (HUNSKAAR *et al.*, 1985; OCVIRK *et al.*, 2008). Além disso, moléculas capazes de inibir mediadores relacionados com a sensação dolorosa como histamina, bradicinina, serotonina e substância P (PARADA *et al.*, 2001; VANEGAS e SHAIBLE, 2004), também podem inibir a fase neurogênica do teste da formalina. A inibição dessa fase foi observada apenas com o extrato etanólico das folhas de *O. notata* e com a fração butanólica de *M. moricandiana*. Neste contexto, os extratos de *M. moricandiana*, *P. mucronata* e *V. polygama* não foram capazes de inibir essa primeira fase. Entretanto, foram capazes de inibir significativamente a segunda fase (Fase Inflamatória) do modelo da formalina. Já o extrato das folhas de *O. notata* foi capaz de inibir ambas as fases do teste, assim como a fração butanólica de *M.*

*morilandiana*. A segunda fase reflete o estímulo contínuo proveniente da primeira fase e é caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios na pata do animal (JI e WOOLF, 2001). Desta forma, esta fase pode ser inibida por substâncias que sejam capazes de inibir diversos passos do processo inflamatório, podendo ocorrer através da inibição da produção e/ou liberação dos mediadores ou também por efeito direto nos seus receptores. Para avaliar como estes extratos poderiam estar inibindo a fase inflamatória do teste da formalina, torna-se necessário dar continuidade à pesquisa.

A fração butanólica de *M. morilandiana*, na dose de 10 mg/kg, foi capaz de inibir significativamente a fase inflamatória e a fase neurogênica do teste da formalina. Além disso, também foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Desta forma, esta fração possui grande importância na atividade anti-inflamatória e analgésica.

## 6. CONCLUSÕES

Os estudos farmacológicos são de grande importância para comprovar cientificamente as propriedades de plantas utilizadas na medicina popular. Dentro deste contexto, a triagem dos extratos das folhas das espécies vegetais selecionadas, realizado no Laboratório Integrado de Pesquisa – UFRJ- campus Macaé, concluiu que:

- ✓ As espécies *Stachytarpheta schottiana*, *Humiria balsamifera* e *Tapirira guianenses*, na dose de 10 mg/kg, não apresentaram efeito analgésico. No entanto, doses mais elevadas podem ser avaliadas;
- ✓ A espécie *Ocotea notata* apresentou efeito anti-inflamatório, visto que foi capaz de inibir tanto a fase neurogênica quanto a fase inflamatória do teste da formalina. No entanto, não apresentou atividade analgésica no modelo de contorções abdominais;
- ✓ As espécies *Vitex polygama*, *Passiflora mucronata* e *Mandevilla morilandiana* apresentaram efeitos anti-inflamatório e analgésico, uma vez que foram capazes de inibir a fase inflamatória do teste da formalina e as contorções abdominais no teste do ácido acético;

- ✓ A fração butanólica do extrato de *M. moricandiana* pode conter substâncias responsáveis pelos efeitos analgésico e anti-inflamatório dessa espécie;
- ✓ Desta forma, os resultados deste trabalho possibilitaram a identificação de quatro extratos de espécies vegetais com atividade biológica relevante, contribuindo para a ampliação do conhecimento científico sobre a biodiversidade da região Norte Fluminense e também para a identificação de novos produtos bioativos de origem natural com possibilidade de desenvolvimento de novos fármacos.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, S.F. Manual de terapêutica veterinária, 2º edição. São Paulo: Roca, p. 128-149, 2002.

ALMEIDA, M.Z., ATHAYDE, V., SOUZA, M., CAMPOS G., CUNHA, C., SILVA-FILHO, A., GUTIÉRREZ, I., COSTA, N., CAMPELLO, I., MOREIRA, T., MOREIRA T, LOBO, L., HORI, L., SANHO, T., FIGUEIREDO, C., GOIS, F., OLIVEIRA, J & FURTADO, V. Levantamento etnobotânico em comunidades terreiros: Manso Dandalungua Cocuazenza. In: 6º Simpósio de Farmacognosia, Belém. Anais, Jornal Brasileiro de Fitomedicina/APSEN Fitomedicina. p. 50, 2007.

AHMAD, F.B & HOLDSWORTH, D.K. Traditional medicinal plants of Sabah State Malaysia. Part III. Int. J. Pharmacognosy, v. 33, p. 262- 264, 1995.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa aumenta controle sobre a venda de antiinflamatórios). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/051108\\_1.htm](http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/051108_1.htm)>. Acesso em 19 de maio de 2014.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de dados. Produtos das empresas de medicamentos e hemoderivados. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov/medicamentos/banco\\_med.htm](http://www.anvisa.gov/medicamentos/banco_med.htm)>. Acesso em 20 de maio de 2014.

ARANDA E., HERNANDEZ, M.M., HERASO, C., VILLARREAL, M.L. Arispuro IV. Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. J. Ethnopharmacol., v. 67, p. 37-44, 1999.

ARAUJO, L.F., SOEIRO, A.M., FERNANDES, J.L; JÚNIOR, C.V.S. Eventos cardiovasculares: um efeito de classe dos inibidores de COX-2. Arq. Bras. Cardiol., v. 85, p. 222-228, 2005.

ARIF, T., BHOSALE, J.D., KUMAR, N., MANDAL, T.K., BENDRE, R.S., LAVEKAR, G.S., DABUR, R. Natural products - antifungal agents derived from plants. J. Asian Nat. Prod. Res, v. 11, p. 621-638, 2009.

BAJPAI, A., OJHA, J.K, SANT, H.R. Medicobotany of the Varanasi District Uttar Pradesh, India. Int. J. Pharmacognosy, v. 33, p. 172–176, 1995.

BALLABENI, V., TOGNOLINI, M., BERTONI, S., BRUNI, R., GUERRINI, A., RUEDA, G.M., BAROCELLI, E. Antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from wild *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) calices from Amazonian Ecuador. Pharmacol Res., v. 55, p. 23-30, 2007.

BANDONI, A.L. & CZEPAK, M.P. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores. EDUFES, Vitória, ES. 623 pp, 2008.

BANKS, J.W. Histologia veterinária aplicada, 2ª edição. Barueri, São Paulo: Manole, 1992.

BARREIRO, E.J & BOLZANI, V.S. Biodiversidade: Fonte Potencial para a descoberta de fármacos. Quím. Nova, v. 32, p. 679-688, 2009.

BASBAUM, A.I & JESSELL, T. The perception of pain. In: Principles of Neuroscience. Editado por: Kandel, E.R., Schwartz, J e Jessell, T. New York: Appleton and Lang, p. 472–491, 2000.

BASBAUM, A.I., BAUTISTA, D.M., SCHERRER, G., JULIUS, D. Cell. Mol. Mech. of Pain Cell, v. 139, p. 267-284, 2009.

BAZAN, N. G & Flower, R. J. Medicine: Lipid signals in pain control. Nature, v. 420, p. 135-138, 2002.

BERKLEY, K. J. Sex differences in pain. Behav. and Brain Sci., v. 20, p. 371-380, 1999.

BESSON, J.M. The neurobiology of pain. Lancet., v. 353, p. 1610-1615, 1999.

BESSON, J.M & CHAOUCH, A. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. Physiol. Rev., v. 67, p. 67-186, 1987.

BOERS, M. NSAIDS and selective COX-2 inhibitors: competition between gastroprotection and cardioprotection. Lancet, v. 357, p. 1222-1223, 2001.

BORGES, I.F., PEREIRA, R.V., HEGGDORNE-ARAÚJO, M., LASSOUNSKAIA, E., SOUZA, R.O., LEAL, I.C., MUZITANO, M.F. Ocotea notata extracts: chemical profile and *in vitro* antimycobacterial activity. Planta Med., v. 79, PA 19, 2013.

BOTTING, R.M.J. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). Thermal Biol., v. 31, p. 208-219, 2006.

BRAGA, R. Plantas do Nordeste. Coleção Mossoroense: Ed: by Escola superior de Agricultura de Mossoró: Mossoró; v. XLIII, p. 352, 1976.

BRAGA, N.P., CREMASCO, M.A., VALLE, R.C.C.R. The effects of fixed-bed drying on the yield and composition of essential oil from long pepper (*Piper hispidinervum* C. DC.) leaves. *J. Braz. Chem. Eng.*, v. 22, p. 257-262, 2005.

BRICKS, L. F & SILVA, C. A. A. Toxicidade dos antiinflamatórios não-hormonais. *Pediatria*, v. 27, p. 181-193, 2005.

BRENNAN, F., CARR, D.B., COUSINS, M. Pain management: A fundamental human right. *Anesth. Analg.*, v. 105, p. 205-221. 2007.

BRUNETON, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. *Technique & Documentation*. Paris: Lavoisier, 915 pp, 1995.

BRUNI, R., MEDICI, A., ANDREOTTI, E., FANTIN, C., MUZZOLI, M., DEHESA, M., SACCHETTI, G. Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chem.*, v. 85, p. 415-421, 2004.

CALIXTO, J.B., CAMPOS, M.M., OTUKI, M.F., SANTOS, A.R. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. Modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Médica*, v. 70, p. 93-103, 2004.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. *J. Ethnopharmacol.*, v. 100, p. 131-134, 2005.

CARIBE, J & CAMPOS, J.M. Plantas que ajudam o homem. Guia Prático para Época. Atual. 1991.

CARR, D.B. & GOUDAS, L.C. Acute pain. *Lancet.*, v. 353, p. 2051-2058, 1999.

CESARE, P & MCNAUGHTON, P. Peripheral pain mechanisms. *Curr. Opin. Neurobiol.*, v.7, p. 493-499, 1997.

CORRÊA, C.R & CALIXTO, J.B. Evidence for participation of B1 and B2 kinin receptors in formalin-induced nociceptive response in the mouse. *J. Bras. Pharmacol.*, v. 110, p. 193-198, 1993.

CORRÊA, P. *Dicionário das Plantas Uteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Imprensa Nacional, Ministerio da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil, v. 5. 1984.

CORREIA, S.J., DAVID, J.M., DAVID, J.P., CHAI, H-B., PEZZUTO, J.M., CORDELL, G.A. Alkyl phenols and derivatives from *Tapirira obtusa*. *Phytochemistry*, v. 56, p. 781-84, 2001.

COSTA, A.F & DIAS, I.C.A. (orgs.). *Flora do parque nacional da restinga de Jurubatiba e arredores*, Rio de Janeiro, Brasil: listagem, florística e fitogeografia. Série livros 8. Universidade Federal do Rio de Janeiro – RJ, Museu Nacional, 2001.

COSTA, D.P & YANO, O. Briófitas da restinga de Macaé, Rio de Janeiro, Brasil. *Hoehnea*, v. 25, p. 99-119, 1998.

COSTA, P.M. Avaliação do potencial antitumoral dos hidrobenzofuranóides isolados das folhas da *Tapirira guianensis* (Anacardiaceae). Universidade Federal do Ceará. Faculdade de medicina. Departamento de fisiologia e farmacologia, 2006a.

COSTA, D.P., IMBASSAHY, C.A.A., ALMEIDA, J.S.S., SANTOS, N.D., IMBASSAHY, T.F.V. Diversidade das briófitas nas restingas do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Boletim do Instituto de Botânica*, v. 18, p. 131-139, 2006b.

COSTA, R.G. Estudo da composição química do óleo essencial e da atividade anti-herpes de flavonóides de *Ocotea notata*(Nees) Mez (Lauraceae). Universidade Federal do Rio de Janeiro. Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, 2010.

CHAPMAN, C.R & GAVRIN, J. Suffering: the contributions of persistent pain. *Lancet.*, v. 353, p. 2233-2237, 1999.

CHROUSOS, G.P. Adrenocorticóides e antagonistas cortico-supra-renais. In: *Farmacologia Básica e Clínica*, 9º edição. Editado por Katzung, B.G. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 536-551, 2006.

CRUZ, A.A & CARVALHO, E.M. Introdução à imunofarmacologia. In: *Farmacologia*, 7º edição. Editado por Silva, P. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 523-530, 2006.

DAVID, J.M., CHÁVEZ, J.P., CHAI, H.B, PEZZUTO, J.M & CORDELL, G.A. Two new cytotoxic compounds from *Tapirira guianensis*. *J. Nat. Prod.*, v. 61, p. 287-289, 1998.

DEBENEDICTS, C., JOUBEH, S., ZHANG, G., BARRIA, M., GHOHESTANI, R.F. Immune functions of the skin. *Clin. Dermat.*, v.19, p. 573-585, 2001.

DE SOUZA, G., HAAS, A.P.S., VON POSER, G.L., SCHAPOVAL, E.E.S., ELISABETSKY, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004.

DIAS, K.L.G. *et al.* Cardiovascular effects induced by reticuline in normotensive rats. *Planta Medica*, v. 70, p. 328-333, 2004.

DIXON, R.A. Natural products and plant disease resistance. *Nature*, v. 411, p. 843-847, 2001.

DÓREA, E.L. Fármacos imunossupressores. In: *Farmacologia*, 7º edição. Editado por Silva, P. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 531-536, 2006.

DUARTE, M.R. & LARROSA, C.R.R. Morpho-anatomical characters of the leaf and stem of *Mandevilla coccinea* (Hook. Et Arn.) Woodson, Apocynaceae. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v. 47, n. 1, 2011.

DUBEY, N.K., KUMAR, R., TRIPATHI, P. Global Promotion of herbal medicine: India's opportunity. *Curr. Sci.*, v. 86, p. 37-41, 2004.

DHAWAN, K.; KUMAR, S.; SHARMA, A. *Passiflora* : a review update. *J. Ethnopharmacol.*, v. 94, p. 1-23, 2004.

DRAY, A., URBAN, L., DICKENSON, A. Pharmacology of chronic pain. *Trends Pharmacol. Sci.*, v. 15, p. 190-197, 1994.

EL SAYAH, M. & CALIXTO, J.B. Study of the mechanisms involved in the bradykinin-induced contraction of the pig iris sphincter muscle in vitro. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 458, p. 175-181, 2003.

ESTEVEZ, F.A. Do índio goitacá à economia do petróleo: Uma viagem pela história e ecologia da maior restinga protegida do Brasil. *Campos dos goytacazes*. Ed. Essentia, p. 232, 2011.

FALLON, M.T & HANKS, G.W. Morphine, constipation and performance status in advanced cancer patients. *Palliat Med.*, v. 13, p. 159-160, 1999.

FAUCETT, J.A & LEVINE, J.D. The contributions of interpersonal conflict to chronic pain in the presence or absence of organic pathology. *Pain*. v. 44, p. 35-43, 1991.

FIORUCCI, S., MELI, R., BUCCI, M., CIRINO, G. Dual inhibitors of ciclooxigenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?. *Biochem. Pharmacol.*, v. 62, p. 1433-1438, 2001.

FIRESTEIN, G.S. Inhibiting inflammation in rheumatoid arthritis. N. Engl. J. Med., v. 354, p. 80–82, 2006.

FERREIRA, D.T. & FACCIONE, M. Opiáceos, Opióides de ação analgésica e antagonistas. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 26, p. 125-136, 2005.

FOURNET, A., FERREIRA, M.E., ROJAS DE ARIAS, A., GUY, I., GUINAUDEAU, H., HEINZEN, H. Phytochemical e antiprotozoal activity of *Ocotea lancifolia*. Fitoterapia, v. 5, p. 382-384, 2007.

FURST, S. Transmitters involved in antinociception in the spinal cord. Brain Res. Bulletin, v.48, p. 129-141, 1999.

FLÓREZ, S.M., GONZÁLEZ-GALLEGO, J, CULEBRAS, J.M., TUÑÓN, M.J. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp., v. 17, p. 271-278, 2002.

FREITAS, C.S., BAGGIO, C.H., SANTOS, A.C., MAYER, B., TWARDOWSCHY, A., LUIZ, A.P., MARCON, R., SOLDI, C., PIZZOLATTI, M.G, SANTOS, E.P, MARQUES, M.C.A., SANTOS, A.R.S. Antinociceptive properties of the hydroalcoholic extract, fractions and compounds obtained from the aerial parts of *Baccharis illinita* DC in mice. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol., v. 104, p. 285-292, 2009.

GALLO, M.B.C., BELTRAME, F.L., VIEIRA, P.C., CASS, Q.B., FERNANDES, J.B., SILVA, M.F.G.F. Quantitative determination of 20-hydroxyecdysone in methanolic extract of twigs from *Vitex polygama* Cham. J. Chromatogr.B., v. 832, p. 36-40, 2006.

GALLO, M.B.C., VIEIRA, P.C., FERNANDES, J.B., SILVA, M.F.G.F., PIRES, F.R.S. Compounds from *Vitex polygama* active against kidney diseases. J. Chromatogr., v. 115, p. 320-332, 2008.

GANONG, W.F. The stress response: a dynamic overview. Hosp. Prac., v. 23, p. 155-190, 1988.

GUYTON, A.C & HALL, J.E. Textbook of medical physiology, 11ª ed, Philadelphia: Elsevier Saunders,2006.

GARRETT, R. Pesquisa de substâncias anticolinesterásicas em extratos apolares de plantas medicinais do Rio de Janeiro. In: VI Congresso Brasileiro de Farmacognosia. Belém-Pará. Jornal Brasileiro de Farmacognosia, v. 5, p.17, 2007.

GUERRINI, A., SACCHETTI, G., MUZZOLI, M., MORENO RUEDA, G., MEDICI, A., BESCO, E., BRUNI, R. Composition of the volatile fraction of *Ocotea bofo* Kunth (Lauraceae) calyces by GC-MS e NMR fingerprinting e its antimicrobial e antioxidant activity. J. Agric Food Chem., v. 54, p. 7778-7788, 2006.

GLARE, P & LICKISS, J.N. Unrecognized constipation in patients with advanced cancer: a recipe for therapeutic disaster. J. Pain Symptom Manage., v. 7, p. 369-371, 1992.

GREGORY, C.R. Immunosuppressive agentes. In: Kirk's Current Veterinary Therapy XIII – Small animal practice. Editado por Bonagura, J.D, p. 509-513, 2000.

HARIZI, H., CORCUFF, J.B., GUALDE, N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. Trends Mol. Med., v. 14, p. 461-469, 2008.

HILÁRIO, M.O.E., TERRERI, M.T., LEN, C.A. Antiinflamatórios não-hormonais: inibidores da ciclooxigenase 2. J. Pediatria, v. 82, p. 206-212, 2006.

HUNSKAAR, S., FASMER, O.B., HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. J. Neurosci. Meth., v. 14, p. 69-76, 1985.

HUBINGER, S. Z.; POLITI, F. A.S.; SALGADO, H. R.N.; PIETRO, R. C.L. R.; MOREIRA, R. R.D. Evaluation of the activity on intestinal motility of *Endopleura uchi* (Humiriaceae) aqueous extract. In: Brazilian Conference on natural products. Anais. São Paulo: BCNp, 2007.

IASP (International Association for the Study of Pain). IASP Pain Terminology. 2<sup>a</sup> ed. Seattle, 1994.

IMBELONI, L. E. Naloxona: Estado Atual. Rev. Bras. Anesthesiol., v. 39, n. 2, 1989.

ISAH, A.B., IBRAHIM, Y.K.E., ABDULRAHMAN, E.M., IBRAHUM, M.A. The hypoglycaemic activity of the aqueous extract of *stachytarpheta angustifolia* (Verbanaceae) in normoglycaemice and alloxan-induced diabet rats. Park. J. Bio. Sci., v. 10, p. 137-141, 2007.

JABBUR, S.J & SAADÉ, N.E. From electrical wiring to plastic neurons: envolving approaches to the study of pain. Pain, v. 82, p. 587-592, 1999.

JANEWAY JR, C.A & TRAVERS, P. Immunobiologia. O sistema imunológico na Saúde e na Doença, 2<sup>a</sup> ed. Editora Artes Médicas, 582 pp, 1997.

Jl, R.R & WOOLF, C.J. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. Neurobiol., v.8, p. 1-10, 2001.

JULIUS, D & BASBAUM, A. I. Molecular mechanisms of nociception. Nature, v. 413, p. 203-210, 2001.

KUPPER, T.S. Immune and inflammatory processes in cutaneous tissues. Mechanisms and Speculations. J. Clin. Invest., v. 86, p. 1783-1789, 1990.

KURZ, A & SESSLER, D.I. Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. Drugs, v. 63, p. 649-671, 2003.

KLEGERIS, A., MCGEER, E.G., MCGEER, P.L. Therapeutic approaches to inflammation in neurodegenerative disease. Curr. Opin. Neurology, v. 20, p. 351-357, 2007.

LACERDA, L.D & ESTEVES, F.A. Restingas brasileiras: Quinze anos de estudo. In Ecologia de restingas e lagoas costeiras. Editado por Esteves, F e Lacerda, L.D. Nupem/UFRJ-RJ, 2000.

LE BARS, D., GOZARIU, M., CADDEN, S.W. Animal models of nociception. *Pharmacol. Rev.*, v. 53, p. 597-652, 2001.

LEE, J.L., MUKHTAR, H., BICKERS, D.R., KOPELOVICH, L., ATHAR, M. Cyclooxygenase in the skin: pharmacological and toxicological implications. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 192, p. 294-306, 2003.

LEE, A.M., LEE, Y.J., KIM, Y.C., KIM, S.J., KANG, D.G., LEE, H.S. Vascular protective role of vitexicarpin isolated from vitex rotundifolia in human umbilical vein endothelial cells. *Inflammation*, v. 35, n. 2, 2012.

LEITÃO, S.G & SANTOS, T.C. Essential oils from two brasilian vitex species acta horticulturae, *J. Braz. Pharmacognosy*, v. 500, p. 89-92, 1999.

LEITÃO, S.G., SANTOS, T.C., DELLE MONACHE, F., MATHEUS, M.E., FERNANDES, P.D., MARINHO, B.G. Phytochemical profile and analgesic evaluation of vitex cymosa leaf extracts. *J. Braz. Pharmacognosy*, v. 21, p. 874-883, 2011.

LI, S., DOU, W., TANG, Y., GOORHA, S., BALLOU, L.R., BLATTEI, C.M. Acetaminophen Antipyretic or hypothermic in mice? In either case, PGHS-1b (COX-3) is irrelevant. *Prostaglandins & other Lipid Mediators.*, v. 85, p. 89-99, 2008.

LIBBY, P. & PLUTZKY, J. Inflammation in diabetes mellitus: role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists. *Am. J. Cardiol.*, v. 99, p. 27-40, 2007.

LIU, J. Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.*, v. 49, p. 57-68, 1995.

LOESER, J.D & MELZACK, R. Pain: An Overview. *Lancet.*, v. 353, p. 1607-1609, 1999.

LORENZI, H & MATOS, F.J. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, p. 371-374, 2002.

Macaé em pauta, 2013.

Disponível em: <[HTTP://MACAEEMPAUTA.BLOGSPOT.COM.BR/2012/06/PARQUE-RESTINGA-DE-JURUBATIBA-MACAE-E-E.HTML](http://MACAEEMPAUTA.BLOGSPOT.COM.BR/2012/06/PARQUE-RESTINGA-DE-JURUBATIBA-MACAE-E-E.HTML)>. Acesso em 19 de maio de 2014.

MAHATO, S.B., SARKAR, S.K., PODDAR, G. Triterpenoid saponins. *Phytochemistry*, v. 27, p. 3037-3067, 1988.

MAHMOUD, T.S., MARQUES, M.R., PESSOA, C.O., LOTUFO, L.V.C., MAGALHÃES, H.I.F., MORAES, M.O., LIMA, D.P., TININIS, A.G & OLIVEIRA, J.E. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian Middle West plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, p. 456-464, 2011.

MAIA, J.G.S. & ANDRADE, E.H. Database of the amazon aromatic plants and their essential oils. *Quím. Nova*, v. 32, p. 595-622, 2009.

MARQUES, C. A. Importância econômica da família Lauraceae Lindl. *Floresta e Ambiente*, v. 8, p. 195-206, 2001.

MATTHIAS, L.A & EMILY, A. Tapping and Amazonian plethora: four medicinal plants of Marajó Island, Pará-Brazil. *J Ethnopharmacol.*, v. 40, p. 53-75, 1993.

MATTOS, W.M., FERREIRA, J., RICETTI, G.P., NIERO, R., YUNES, R.A., CALIXTO, J.B. Antinociceptive properties produced by the pregnane compound velutinol A isolated from *Mandevilla velutina*. *Neuropeptides*, v. 40, p. 125-32, 2006.

MATTOS, W.M., CAMPOS, M.M., FERNANDES, E.S., RICETTI, G.P., NIERO, R., YUNES, R.A., CALIXTO, J.B. Anti-edematogenic effects of velutinol A isolated from *Mandevilla velutina*: Evidence for a selective inhibition of kinin B1 receptor-mediated responses. *Regul. Pept.*, v. 137, p. 98-104, 2006.

MEENA, A.K., SINGH, U., YADAV, A.K., SINGH, B., RAO, M.M. Pharmacological and phytochemical evidences for the extracts from plants of the genus *Vitex* - A review. *Int. J. pharmaceutical and clinical res.*, v.2, p. 01-09, 2010. In: *Wealth of India: Raw Materials*. CISR, New Delhi, pp. 522, 1976.

MENDES, M.D.S. Caracterização química e molecular de espécies das famílias *Lamiaceae* e *Apiaceae* da flora aromática de Portugal. Tese de mestrado em biologia celular e biotecnologia. Universidade de Lisboa, 2007.

MEYER, R.A., RINGKAMP, M., CAMPBELL, J.N., RAJA, S.N. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. In: *Wall and Melzack's Textbook of Pain*. Editado por McMahon, S.B & Koltzenburg, M. Philadelphia: Elsevier, p. 3–34, 2008.

MESIA-VELA, S., SOUCCAR, C., LIMA- LANDMAN, M.T. Pharmacological study of *Stachytarpheta cayennensis* Vahl in rodents. *Phytomedicine*, v. 11, p. 616-624, 2004.

MILLAN, M.J. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.*, v. 66, p. 3474-555, 2002.

MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. *Prog. Neurobiol.*, v. 57, p.1-164, 1999.

MIRANDA, A.R.L. Levantamento Apibotânico no Município de Morros – MA. In: *Seminário de iniciação científica – UEMA, São Luís*. Anais, p.4, 2005.

MONTEIRO, E.C.A., TRINDADE, J.M.F., DUARTE, A.L.B.P., CHAHADE, W.H. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). *Temas Reumatol. Clín.*, v. 9, p. 53-63, 2008.

MORAIS, L., BARBOSA-FILHO, J.M.; ALMDEIDA, R.N. Central depressant effects of reticuline extracted from *Ocotea duckei* in rats e mice. *J. Ethnopharmacol.*, v. 62, n. 1, p. 57-61, 1998.

MOREIRA, R.C.R., REBÊLO, J.M.M., GAMA, M.E.A., COSTA, J.M.L. Nívelde conhecimento sobre Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, v. 18, p. 187-195, 2002.

MOREIRA, R.C.R., COSTA, G.C., LOPES, T.C., BEZERRA, J.L., ROSANE, N.M. GUERRA, R.N.M., REBÊLO, J.M.M., RIBEIRO, M.N.S., NASCIMENTO, F.R.F., COSTA, J.M.L. *In vitro* leishmanicidal effect of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae). *Rev. Bras. Farmacogn.*, v.17, p. 59-63, 2007.

MOREIRA, R.R.D., PELISSARI, G.P., ANANIAS, S.A., POLITI, F.A.S., CARLOS, I.Z., PIETRO, R.C.L.R., SANTOS, L.E., PLACERES, M.C.P. Avaliação da atividade imunológica *in vitro* do extrato aquoso de *Endopleura uchi* Huber (Humiriaceae)-“uchi amarelo”. *Jornal Brasileiro de Fitomedicina*, p. 82, 2007.

MUELLER, M.M. Inflammation in epithelial skin tumors: Old stories and new ideas. *Eur. J. Cancer*, v. 42, p. 735-744, 2006.

NEWMAN, D.J & CRAGG, G.M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.*, v. 75, p. 311-335, 2012.

NICKOLOFF, B.J & NESTLE, F.O. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. *J. Clin. Invest.*, v.13, p. 1664-1675, 2004.

NONATO, F.R., BARROS, T.A.A., LUCCHESI, A.M., OLIVEIRA, C.E.C., SANTOS, R.R., SOARES, M.B.P., VILLARREAL, C.F. Antiinflammatory and antinociceptive activities of *Blechnum occidentale* L. extract. J. Ethnopharmacol., v. 125, p. 102-107, 2009.

OLIVEIRA, L. F. Dor: fisiopatologia. Rev. Bras. Anesthesiol., v. 28, p. 227-288, 1979.

OLIVEIRA, E.A & SELL, A.M. Os antígenos HLA e a hemoterapia. Acta Scientiarum, v. 24, p. 731-736, 2002.

OLIVEIRA, D.M & BASTOS, D.H.M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. Quím. Nova, v. 34, p. 1051-1056, 2011.

OMOIGUI, S. The biochemical origin of pain – proposing a new law of pain: the origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 1 of 3 – a unifying law of pain. Med. Hypotheses, v. 69, p. 70-82, 2007.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Neurociência do uso e da dependência de substâncias psicoativas. São Paulo: Roca, 2007.

PACHÚ, C.O., ALMEIDA, R.N.; BARBOSA-FILHO, J.M. Atividade depressora do sistema nervoso central pela langambina. Ciência Cultura Saúde, v.12, p. 14-16, 1993.

PAOLETTI, R., GOTTO, A.M., HAJJAR, D.P. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. Circulation, v. 109, p. 20–26, 2004.

PARENTE, L. Pros and cons of selective inhibition of cyclooxygenase-2 versus dual lipoxygenase/cyclooxygenase inhibition: is two better than one? J. Rheumatol., v. 28, p. 2375-2382, 2000.

PATEL, J., SHAH, S., DESHPANDE, S., SHAH, G. Evaluation of the antiasthmatic activity of leaves of Vitex Negundo. Asian J. Pharm. Clin. Res., v. 2, p. 81- 86, 2009.

PATRIGNANI, P., TACCONELLI, S., SCIULLI, M.G., CAPONE, M.L. New insights into COX-2 biology and inhibition. *Brain Res. Rev.*, v. 48, p. 352-359, 2005.

PAUL, S.R & SINGH, K.K. Medico-botanical lore of some plants used by the rural folk of Goa, India. *Int Conf Curr Prog Med Aromat Pl. Res. Calcutta, India*, pp. 101, 1995.

PETTIT, R & DIAS, R. Conversion of tetracyclic triterpenes to steroids. *Can. Chem.*, v. 47, p. 1091-1092, 1969.

PIO CORRÊA, M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 5, 1978.

POLITI, F.A.S. Estudos farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2009.

POLITI, F.A.S., HUBINGER, S.Z., LONGO, M.C., MOREIRA, R.R.D., PIETRO, R.C.L.R. Evaluation of the anti-inflammatory activity of *Endopleura uchi* (Humiriaceae) aqueous extract. In: *Brazilian Conference on Natural Products. Anais. São Paulo: BCNp, 2007a.*

POLITI, F.A.S., MOREIRA, R.R.D., SOUZA, T.M., PIETRO, R.C.L.R. Preliminary studies of antimicrobial activity of *Endopleura uchi*. In: *Brazilian Conference on Natural Products. Anais. São Paulo: BCNp, 2007b.*

RANG, H.P.; DALE, M.M; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. Fármacos analgésicos. In: *Farmacologia*, 6ª. Editora Guanabara. Rio de Janeiro: Elsevier, 6ª ed., 2007.

RAO, P. & KNAUS, E.E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J. Pharm. Sci.*, v. 11, p. 81-110, 2008.

RIBEIRO, R.D.A., GARCEZ DO CARMO, L., VLADIMIROVA, I., JURKIEWICZ, N.H., JURKIEWICZ, A. Nantenine blocks muscle contraction e Ca<sup>2+</sup> transient induced by noradrenaline e K<sup>+</sup> in rat vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 470, n. 1-2, p. 37-43, 2003.

ROBERT, C. & KUPPER, T.S. Inflammatory skin diseases, T cells and immune surveillance. *N. Engl. J. Med.*, v. 341, p. 1817-1828, 1999.

ROBERTS, L.J & MORROW, J.D. Analgesic-antipyretic and antiinflammatory agents and drugs employed in the treatment of gout. *Pharmacol. Basis of Ther.*, 9<sup>o</sup> ed. McGraw-Hill, New York, p. 687-731, 2001.

ROCCA, B & FTIZGERALD, G.A. Cyclooxygenases and prostaglandins: shaping up the immune response. *Int. Immunopharmacol.*, v. 2, p. 603–630, 2002.

ROUMY, V., FABRE, N., PORTET, B., BOURDY, G., ACEBEY, L., VIGOR, C., VALENTIN, A & MOULIS, C. Four anti-protozoal and anti-bacterial compounds from *Tapirira guianensis*. *Phytochem.*, v. 70, p. 305-311, 2009.

RUS, H., PERRY, I.J., CAHILL, M.R., BUNO, J.J., MURRAY, W.M. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.*, v. 337, p. 422-424, 1997.

RUSSO, C.M & BROSE, W.G. Chronic pain. *Annu. Rev. Med.*, v. 49, p. 123-133, 1998.

SÁ-BARRETO, L.C.L., CUNHA-FILHO, M.S.S., SOUZA, I.A., FRAGA, M.C., XAVIER, H.S. Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana Schauer* (Verbenaceae). *Latin Am. J. Pharmacy*, v. 27, p. 909-13, 2008.

SAMAD, T.A., SAPIRSTEIN, A., WOOLF, C.J. Prostanoids and pain: unraveling mechanisms and revealing therapeutic targets. *Trends Mol. Med.*, v.8, p. 390-396, 2002.

SANTOS, M.G., SYLVESTRE, L.S., ARAUJO, D.S.D. Análise florística das pteridófitas do parque nacional da restinga de Jurubatiba, rio de janeiro, Brasil. Acta Bot. Bras., v. 18, p. 271-280, 2004.

SASIKALA, V., SARAVANAN, S., PARIMELAZHAGAN, T. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Passiflora foetida* L. Asian Pac J. Trop. Med., v. 4, p. 600-3, 2011.

SAWYNOK, J. Topical and Peripherally Acting Analgesics. Pharmacol. Rev., v.55, p. 1-20, 2003.

SERRA, M.F. Anti-allergic properties of the natural PAF antagonist yangabin. Planta Medica, v. 63, p. 207-212, 1997.

SCHMITZ, L.M & BACHER, S. Novel molecular targets in the search for anti-inflammatory agents. Phytochemistry Rev., v. 4, p. 19-25, 2005.

SERHAN, N.C & SAVILL, J. Resolution of Inflammation: The beginning programs the end. Nat. Immunol., v. 6, p. 1191-1197, 2005.

SILVA, T.B.C., ALVES, V.L., MENDONÇA, L.V.H., CONSERVA, L.M., ROCHA, E.M.M., ANDRADE, E.H.A., LEMOS, R.P.L. Chemical Constituents and Preliminary Antimalarial Activity of *Humiria balsamifera*. Res. Article, v. 42, p. 94-97, 2004.

SIMMONS, D.L. What makes a good anti-inflammatory drug target? Drug Discovery Today, v.11, p. 210-219, 2006.

SOBOLEWSKI, C., LEGRAND, N., MORCEAU, F., DIEDERICH, M. Inflammation: novel arrows for an ancient target. Biochem. Pharmacol., v. 80, p. 1769-1770, 2010.

SOUZA, C.D & FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 20, p. 135-142, 2006.

SHARP, T.J. Chronic pain: a reformulation of the cognitive-behavioral model. *Beh. Res. Ther.*, v. 39, p. 787-800, 2001.

SHERWOOD, E.R & TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. *Best Practice & Res. Clin. Anesthesiol.*, v.18, p. 385-405, 2004.

SHULAN, S., YONGQING, H., YANYAN, W., WEI, G., WEI, Z., JIN-AO, D., HAIFENG, J., TING, C., YUPING, T. Evaluation of the anti-inflammatory and analgesic properties of individual and combined extracts from *Commiphora Myrrha* and *Boswellia Carterii*. *J. Ethnopharmacol.*, v. 139, p. 649-656, 2012.

SCHIMMER, B.P & PARKER, K.L. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 11<sup>a</sup> ed. New York: McGraw-Hill. Editado por Brunton, L.L., Lazom J.S, Parker, K.L., p. 1587-612, 2007.

TAIZ, L & ZEIGER, E. Plant physiology. Sinauer Associates. Inc Sunderland, 3<sup>o</sup> ed, p. 283-308, 2002.

TAYLOR, P.G., CESARI, I.M., ARSENAK, M., BALLEEN, D., ABAD, M.J., FERNÁNDEZ, A., MILANO, B., RUIZ, M.C., WILLIAMS, B & MICHELANGELI, F. Evaluation of Venezuelan medicinal plant extracts for antitumor and antiprotease activities. *Pharm. Biol.*, v. 44, p. 349-362, 2006.

TERREAUX, C., MAILLARD, M., HOSTETTMANN, K., LODI, G., HAKIZAMUNGU, E. Analysis of the fungicidal constituents from the bark of *Ocotea usambarensis* Engl (Lauraceae). *Phytochemical Analysis*, v. 5, p. 233-238, 1994.

TJAELEN, A., BORGE, O. G., HUSKAAR, S., ROSLAND, J.H., HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. *Pain*, v. 51, p. 5-17, 1992.

TRACEY, J & MANTYH, P.W. The cerebral signature for pain perception and its modulation. *Neuron.*, v. 55, p. 377-91, 2007.

UCHI, H.; TERAU, H.; KOGA, T.; FURUE, M. Cytokines and chemokines in the epidermis. *J. Dermatological Sci.*, v. 24, p. 29-38, 2000.

VANEGAS, H & SCHAIBLE, H.G. Descending control of persistent pain: inhibitory or facilitatory? *Brain Res. Rev.*, v. 46, p. 295 - 309, 2004.

VIOLANTE, I.M.P., SOUZA, I.M., VENTURINE, C.L., RAMALHO, A.F.S., SANTOS, R.A.N., FERRARI, M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. *Braz. J. Pharmacognosy*, v. 19, p. 452-457, 2009.

VITOR, A.O.; PONTE, E.L.; SOARES, P.M.; LIMA, R.C.S.; VASCONCELOS, S.M.M. Psicofisiologia da dor: uma revisão bibliográfica. *RECIIS.*, v.2, p. 87-96, 2008.

WALSH, T.D. Oral morphine in chronic cancer pain. *Pain*, v. 18, p. 1-11, 1984.

WEBSTER, C.R.J. *Farmacologia clínica em medicina veterinária*. São Paulo: Roca, p. 117-119, 2005.

WHELTON, A. Renal aspects of treatment with conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs versus cyclooxygenase-2 specific inhibitors. *Am. J. Med.*, v. 110, p. 33-42, 2001.

WILLIAMS, I.R & KUPPER, T.S. Immunity at the surface: Homeostatic mechanisms of the skin immune system. *Life Sci.*, v. 58, p. 1485-1507, 1996.

WOOLF, C.J & MANNION, R.J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet.*, v.353, p.1959-1964, 1999.

ZHANG, M., THURMOND, R.L., DUNFORD, P.J. The histamine H(4) receptor: a novel modulator of inflammatory and immune disorders. *Pharmacol. Ther.*, v. 113, p. 594-606, 2007.

<<http://www.rehabilitacionpremiummadrid.com/blog/patricia-gomez-rey/fisioterapia-y-dolor-cr%C3%B3nico-una-entidad-propia>>. Acesso em 15 de maio de 2014.