



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CAMPUS UFRJ – MACAÉ

CURSO DE FARMÁCIA



“Estudo das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico e frações das folhas de *Passiflora mucronata*”

Ana Carolina da Silva

Macaé
Dezembro/2015

Ana Carolina da Silva

“Estudo das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico e frações das folhas de *Passiflora mucronata*”

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Campus Macaé como requisito para obtenção do título de farmacêutico.

Orientadoras:

Prof^a. Dr^a. Paula Lima do Carmo

Prof^a. Dr^a. Juliana Montani Raimundo

Macaé
Dezembro/2015

"Deus nos deu a capacidade de sonhar alto para que possamos crescer junto com os nossos sonhos. Dentro de você está tudo o que você precisa para ser quem você quiser ser. Ouse crescer junto com os seus sonhos!"

(Mary Kay Ash)

Dedicatória

Agradeço a Deus por ter me dado força e coragem para seguir até a conquista do meu sonho;

A prof.^a Dr.^a Paula Lima do Carmo por ter me orientado de forma tão carinhosa, estando sempre ao meu lado e não medindo esforços para me ajudar a realizar meu sonho;

A prof.^a Dr.^a Juliana Raimundo Montani por ter me co-orientado, e me dado conselhos valiosos durante a elaboração desse trabalho;

Aos todos meus professores pelo conhecimento transmitido durante todo o curso;

Aos meus queridos e amados pais, M^a de Fátima e José Maria, e todos meus familiares pelas orações e torcida;

Aos meus amigos, principalmente minhas companheiras de casa em Macaé (Nana, Maimai e Ray), pela valiosa amizade, por terem me encorajado nos momentos que eu mais precisei e por terem dividido comigo diversos momentos de alegria;

As companheiras de laboratório, Renata Melo e Raissa Pontes pela colaboração valiosa no meu projeto;

A FAPERJ pelo apoio financeiro;

E a todos que participaram ou torceram pela minha conquista! Obrigada!

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Mediadores químicos que ativam e sensibilizam os nociceptores em resposta à uma lesão tecidual.....	12
FIGURA 2: Vias ascendentes da dor.....	15
FIGURA 3: Via descendente da dor.....	16
FIGURA 4: Esquema dos mediadores químicos derivados do ácido araquidônico.....	18
FIGURA 5: Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba.....	27
FIGURA 6: <i>Passiflora mucronata</i>	29
FIGURA 7: Camundongo <i>Swiss</i>	34
FIGURA 8: Teste de contorções abdominais: efeito do extrato hidroalcoólico e frações da <i>Passiflora mucronata</i>	39
FIGURA 9: Teste da formalina: efeito do extrato hidroalcoólico e frações da <i>Passiflora mucronata</i>	40
FIGURA 10: Teste de placa quente: efeito do extrato hidroalcoólico da <i>Passiflora mucronata</i> em doses crescentes.....	42
FIGURA 11: Teste de placa quente: efeito das frações da <i>Passiflora mucronata</i>	43
FIGURA 12: Teste de placa quente modificado: Efeito do extrato hidroalcoólico e das frações da <i>Passiflora mucronata</i>	44

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Valores do teste da formalina em camundongos.....	41
TABELA 2: Valores do teste de placa quente modificado em camundongos.....	44

LISTA DE ABREVIACOES

- ❖ AAS - cido acetilsalicílico
- ❖ AINE(s) – Anti-inflamatório (s) não esteroidal (is)
- ❖ AMPc - Adenosina monofosfato cíclico
- ❖ CGRP - Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
- ❖ COX – Cicloxigenase
- ❖ COX-1 – Cicloxigenase 1
- ❖ COX-2 – Cicloxigenase 2
- ❖ COX-3 – Cicloxigenase 3
- ❖ COXIBE (s) – Inibidor (es) seletivo(s) da COX-2
- ❖ DMSO - Dimetilsulfóxido
- ❖ ECA - Enzima de conversão da angiotensina
- ❖ EPM - Extrato hidroalcoólico *P. mucronata*
- ❖ ESF 22045 – Extrato obtido por fluido supercrítico
- ❖ Fr - Fraoo
- ❖ GABA - cido gama-aminobutírico
- ❖ HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência
- ❖ i.p. - Intraperitoneal
- ❖ IASP - Associao Internacional para o Estudo da Dor
- ❖ MPa – Pressão em milipascal
- ❖ NMDA - N-Metil-D-Aspartato
- ❖ OMS – Organizao Mundial da Saúde
- ❖ OP - Opioide
- ❖ PAG - Substância cinzenta periaquedutal
- ❖ PG – Prostaglandina (s)
- ❖ PGE₂ – Prostaglandina (s) E₂
- ❖ SNC - Sistema Nervoso Central
- ❖ SP - Substância P
- ❖ v:v – Volume por volume
- ❖ WHO – World Health Organization (Organizao Mundial da Saúde)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 Dor.....	10
1.2 Nocicepção.....	11
1.2.1 Vias ascendentes da dor.....	11
1.2.2 Vias descendentes da dor.....	15
1.3 Inflamação.....	17
1.4 Tratamentos farmacológicos atuais.....	19
1.4.1 Analgésicos opioides.....	20
1.4.2 Anti-inflamatórios não esteroidais.....	22
1.5 Plantas naturais como fonte de novas substâncias biologicamente ativas.....	25
1.6 Família Passifloraceae e o Gênero <i>Passiflora</i>	27
2. JUSTIFICATIVA	30
3. OBJETIVOS	31
3.1 Objetivos Gerais.....	31
3.2 Objetivos Específicos.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Extratos.....	32
4.2 Coleta.....	32
4.3 Obtenção do extrato bruto por maceração convencional.....	32
4.4. Partição do extrato hidroalcoólico das folhas.....	32
4.5 Obtenção do extrato por Fluido Supercrítico.....	33
4.6 Animais.....	34
4.7 Modelos experimentais.....	34
4.7.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	34
4.7.2 Teste da formalina.....	35
4.7.3 Teste da placa quente.....	35
4.7.4 Teste da placa quente modificado.....	36
4.8 Análise estatística.....	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
6. CONCLUSÕES	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

Resumo

Estudo das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico e frações das folhas de *Passiflora mucronata*.

Os fármacos analgésicos e anti-inflamatórios disponíveis no mercado apresentam alta incidência de efeitos adversos. Assim, faz-se necessário a pesquisa de novos tratamentos mais potentes e com menos efeitos adversos. Na literatura existem alguns trabalhos comprovando as ações antinociceptivas e anti-inflamatórias de algumas espécies da família PASSIFLORACEAE, porém ainda não há nada descrito sobre a espécie *Passiflora mucronata*. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico e das frações das folhas de *P. mucronata* em modelos clássicos de experimentação animal. O extrato hidroalcoólico (EPM), frações hexânica e diclorometânica de *P. mucronata* administrados via i.p, resultaram em um efeito antinociceptivo significativo no teste de contorções abdominais; no teste da formalina essa atividade foi observada com a fração diclorometânica. Além disso, o extrato de *P. mucronata* obtido no fluido supercrítico, com característica mais apolar também mostrou atividade analgésica. EPM só apresentou efeito analgésico no teste de placa quente na dose de 30 mg/kg, enquanto as frações testadas não apresentaram efeitos significativos. No teste da placa quente modificado, o EPM, frações hexânica e diclorometânica apresentaram um efeito anti-inflamatório significativo. Desta forma, a atividade antinociceptiva de *P. mucronata* provavelmente está envolvida com ação anti-inflamatória, o que foi comprovado pelo teste de placa quente modificado.

Palavras-chave: Antinocicepção. Analgésico. Atividade anti-inflamatória. *Passiflora mucronata*.

1. Introdução

1.1 Dor

Segundo a Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP), “dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a um dano tecidual real ou potencial [...]” (MERSKEY et al., 1994, p. 210). Relacionado à dor, temos os termos nocicepção, que é o reconhecimento do sinal doloroso pelo sistema nervoso central (SNC), informando sobre a lesão, e os nociceptores, que são os receptores sensoriais que traduzem o sinal doloroso.

Desta forma, pode-se dizer que a dor é uma experiência complexa que não envolve apenas a transdução de um estímulo nocivo, mas também está relacionada ao processo cognitivo e emocional que ocorre no cérebro. (CHAPMAN et al., 1999; JULIUS et al., 2001; ALMEIDA et al., 2004).

Quando um indivíduo sofre uma exposição a estímulos nocivos na pele ou em outros órgãos, essa informação é processada podendo ser diferenciada em dor fisiológica ou patológica. (FANTONI e MASTROCINQUE, 2002; ALMEIDA et al., 2006). A dor fisiológica é aquela que induz uma resposta protetora do organismo, é o chamado reflexo de retirada quando um estímulo lesivo na superfície da pele causa uma dor de curta duração, ou seja, uma dor aguda (FANTONI e MASTROCINQUE, 2002; HELLEBREKERS, 2002). A dor aguda está relacionada a um sintoma inicial de alguma doença, já a dor crônica é característica de uma doença já instalada, sendo nociva independente ao estímulo que a causou. Essa dor patológica, ou crônica, é persistente e pode ser dividida conforme sua origem em: a) nociceptiva, quando há ativação direta de nociceptores em resposta a uma lesão; b) neuropática, quando ocorrem lesões nos nervos, sejam estes periféricos ou do SNC; c) psicogênica que é proveniente de fatores psicológicos envolvidos na sensação dolorosa e pode ser observada em pacientes que possuem depressão e ansiedade generalizada (FURST, 1999; FANTONI e MASTROCINQUE, 2002; ALMEIDA et al., 2006).

Relacionada a um processo adaptativo biológico que visa o reparo tecidual e cicatrização, a dor aguda é proveniente de um processo inflamatório

ou de um trauma em algum tecido (LAMONT e TRANQUILLI, 2000; JI e WOOLF, 2001; MUIR III et al., 2001). A dor crônica é caracterizada por ter uma resposta exagerada em duração e amplitude que impacta na vida do paciente, pois em muitos casos não tem uma boa resposta com as terapias analgésicas convencionais (LAMONT e TRANQUILLI, 2000; JI e WOOLF, 2001). A neuroplasticidade, ou seja, a capacidade do sistema nociceptivo de sofrer alterações na percepção e condução da dor, pode aumentar a percepção da dor e contribuir para o surgimento de síndromes dolorosas crônicas. (PETERSEN-FELIX e CURATOLO, 2002).

Em resumo, a dor é importante porque nos alerta sobre perigo iminente, protegendo nosso corpo e indicando os limites que não devem ser transgredidos (DIAS, 2007).

1.2 Nociceção

1.2.1 Vias ascendentes da dor

A dor pode ser percebida através de dois estágios, sendo o primeiro a nociceção, que é transdução do estímulo doloroso ao SNC pelos seus receptores especializados, os nociceptores (FURST, 1999), e o segundo estágio que é o processamento elaborado dessa informação nociceptiva, levando a percepção da dor (BALDO, 1999).

Os nociceptores podem ser encontrados na pele, vasos, músculos, articulações e vísceras (JULIUS et al., 2001) e podem ser divididos em três classes: os mecanoreceptores, sensíveis a estímulos mecânicos intensos; os termoreceptores, sensíveis a estímulos térmicos maiores que 45°C e os nociceptores polimodais, sensíveis a ambos os estímulos (TEIXEIRA et al., 1994; BESSON, 1999).

A estimulação dos nociceptores pode ocorrer de diversas formas, uma delas é através do processo inflamatório, no qual acontece através da interação dos nociceptores com mediadores químicos. Quando o indivíduo sofre uma lesão química, mecânica ou térmica ocorre uma liberação local de mediadores químicos, como bradicinina, prótons, histamina, serotonina,

substância P (SP), entre outros. Estes mediadores interagem com nociceptores específicos conduzindo à propagação do sinal nociceptivo por alteração na permeabilidade da membrana da fibra nervosa gerando o potencial de ação (Figura 1) (JULIUS et al., 2001; GRIFFIS et al., 2006).

Com a lesão, as células liberam K^+ que despolariza os terminais nervosos, deixando os nociceptores mais responsivos. Com isso, a bradicinina, serotonina e prostaglandinas (PG) liberadas pelas células lesionadas contribuem para o processo inflamatório ativando ou sensibilizando os nociceptores. Com essa ativação, ocorre a liberação da SP, que é responsável pela degranulação dos mastócitos e consequente liberação de histamina; e de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) que tem a função de causar vasodilatação. A histamina, liberada pelos mastócitos, também contribui para a sensibilização dos nociceptores (RAFF e LEVITZKY, 2012).

Após essa interação, a propagação do sinal nociceptivo é possível devido à despolarização da membrana nervosa, proporcionando a ocorrência do potencial de ação.

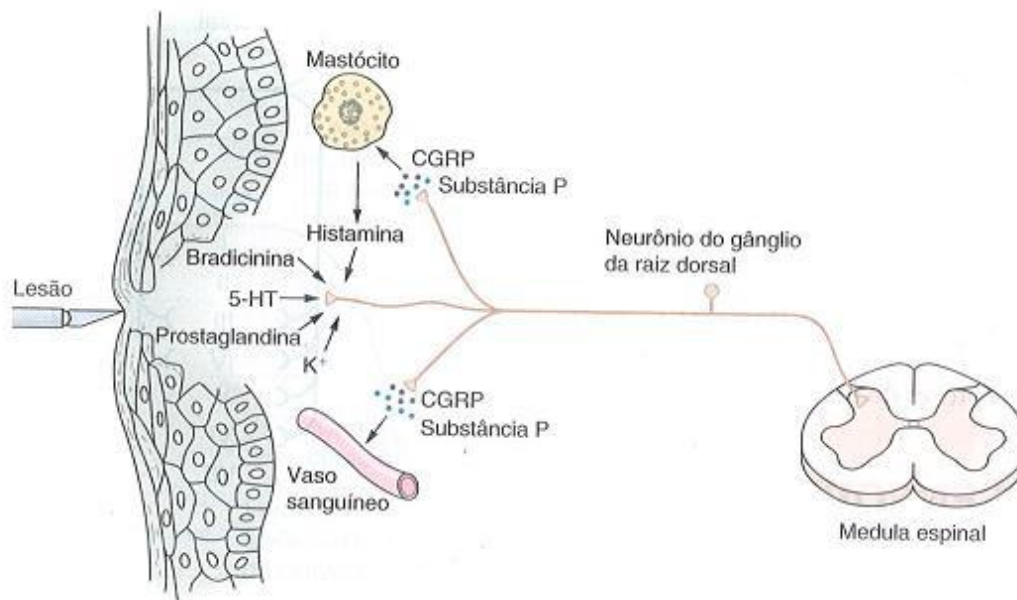


Figura 1 - Mediadores químicos que ativam ou sensibilizam os nociceptores em resposta à uma lesão tecidual. (KANDEL et al., 2000).

Sobre a via ascendente da dor pode-se considerá-la uma cadeia de três neurônios, na qual há o neurônio de primeira ordem originado na periferia e que se projeta para a medula espinhal; o neurônio de segunda ordem que

ascende pela medula espinhal e o neurônio de terceira ordem que se projeta para o córtex cerebral (MESSLINGER, 1997; TRANQUILLI, 2004). Os neurônios de primeira ordem são distribuídos em três grupos conforme seu diâmetro, grau de mielinização e velocidade de condução: fibras A β , que possuem diâmetro grande (10 μ m ou mais), são mielinizadas, possuem condução rápida e são responsáveis por sensações inócuas; as fibras A δ , que possuem diâmetro intermediário (2 a 6 μ m), são mielinizadas, possuem velocidade de condução intermediária e media a primeira fase da dor (dor aguda); e as fibras C, que possuem diâmetro pequeno (0,4 a 1,2 μ m) não são mielinizadas, possuem velocidade de condução lenta e são responsáveis pela dor prolongada (MESSLINGER, 1997; LAMONT e TRANQUILLI, 2000; MUIR III et al., 2001).

Quando não há dano tecidual ou nervoso, as fibras A β transmitem as informações referentes ao estímulo inócuo. Já a informação nociceptiva é transmitida pelas fibras A δ e C, que estão localizadas na pele, vísceras, vasos sanguíneos, peritônio, pleura, periosteio, tendão, fáscia, cápsula articular e fibras do músculo esquelético (MESSLINGER, 1997; LAMONT e TRANQUILLI, 2000; MUIR III et al., 2001). Segundo FORSS et al. (2005), os impulsos nociceptivos mediados pelas fibras A δ e C são processados numa mesma área no córtex cerebral, porém em diferentes janelas de tempo.

As fibras aferentes nociceptivas, que fazem conexão direta entre neurônios e as fibras A δ e C, terminam no corno dorsal da medula, que é dividido em seis lâminas de acordo com as características de seus neurônios. Os neurônios nociceptivo estão localizados nas lâminas I, II e V (ALMEIDA et al., 2004).

As fibras aferentes de primeira ordem são capazes de formar tanto conexões diretas como indiretas com três tipos de neurônios do corno dorsal da medula: os interneurônios, que podem ser excitatórios ou inibitórios; neurônios propioespinhais que atingem várias partes da medula além de estarem envolvidos com a resposta reflexa; e os neurônios de projeção (WDR) que estão envolvidos na transmissão rostral da medula até o mesencéfalo e o córtex. Em resumo, ambos os neurônios são interativos e indispensáveis para o processamento da informação nociceptiva, facilitando a resposta à dor (MILLAN, 1999; LAMONT e TRANQUILLI, 2000; DREWES, 2006).

Entre os neurônios a comunicação da informação nociceptiva é realizada através de mediadores químicos, ou neurotransmissores, que podem ser aminoácidos excitatórios, como o glutamato e aspartato, e inibitórios, como o ácido gama-aminobutírico (GABA) e a glicina; e neuropetídeos, como a SP e o CGRP que auxiliam na sensibilização da via nociceptiva; colecistocinina que é capaz de modular ação dos aminoácidos excitatórios e os peptídeos opioides (encefalinas e endorfinas) que bloqueiam a ação da SP, por exemplo, causando o alívio da dor. Há um grande número de neuropetídeos nas fibras aferentes do tipo C (LAMONT e TRANQUILLI, 2000; RYGH et al., 2005).

Os neurônios de projeção são os responsáveis por conduzir a informação do dano tecidual através das vias ascendentes (excitatórias) ou trato anterolateral da coluna, como também pode ser chamado. As principais vias de condução da dor no SNC são o trato espinotalâmico, no qual os neurônios nociceptivos específicos projetam-se até o tálamo; o trato espinoreticular, no qual os neurônios que terminam na formação reticular ascendem até o tálamo; e o trato espinomesencefálico, no qual os neurônios projetam até formação reticular mesencefálica (Figura 2) (CAILLIET, 1999; MILLAN, 1999; LAMONT e TRANQUILLI, 2000; PISERA, 2005).

Segundo FURST (1999), o tálamo desempenha um papel fundamental na integração do impulso doloroso. É a partir do tálamo que os neurônios de terceira ordem fazem a transmissão dos impulsos para o córtex cerebral, onde então acontece o processamento que vai resultar na consciência da dor pelo indivíduo.

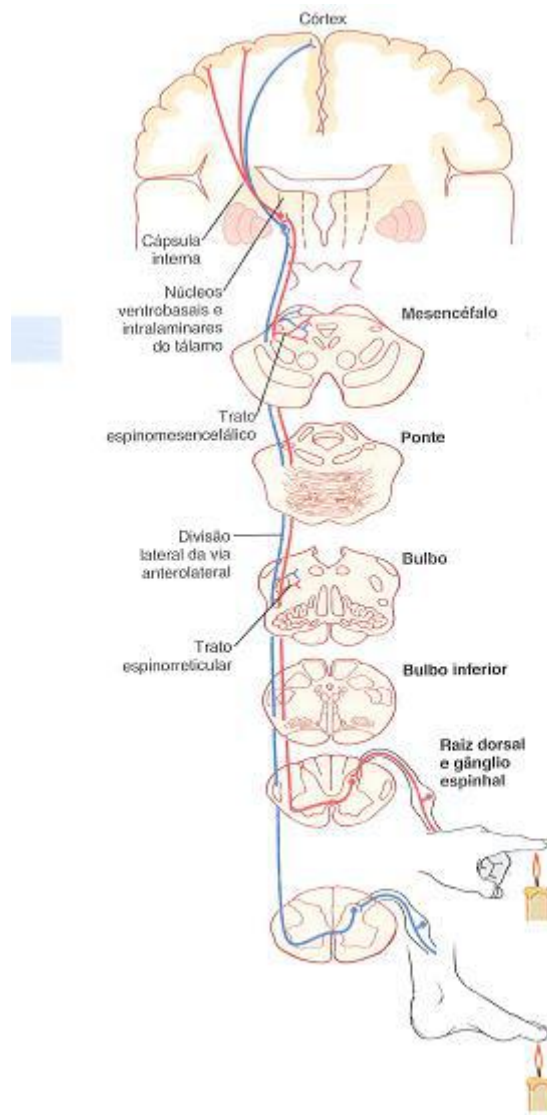


Figura 2: Vias ascendentes da dor. Divisões anterior e lateral da via sensorial anterolateral (GUYTON e HALL, 2011).

1.2.2 Vias descendentes da dor

O bloqueio da dor que ocorre através da estimulação das vias descendentes, vai inibir os neurônios nociceptivos da medula espinhal através da excitação de neurônios serotoninérgicos e neurônios noradrenérgicos. Estes, ao estarem ativados, descem até o corno dorsal da medula, onde realizam conexões inibitórias com neurônios das lâminas I, II e V, provocando assim uma diminuição da resposta à dor (PISERA, 2005). De acordo com LAMONT e TRANQUILLI (2000), a região anatômica mais importante para o sistema de

analgésia endógena é a substância cinzenta periaquedutal (PAG) do mesencéfalo. (Figura 3).

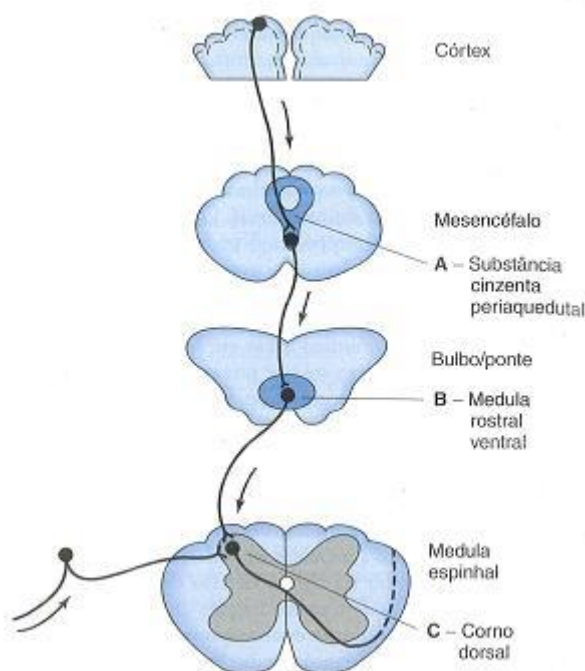


Figura 3 - Via descendente e o bloqueio da dor. (KATZUNG, 2010).

Segundo RIEDEL e NEECK (2001), há dois sistemas que modulam a nocicepção e que são mediados por receptores NMDA (N-Metil-D-Aspartato) e opioides distribuídos por todo SNC. Sobre os receptores opioides há três principais subtipos de receptores: μ e δ , que são capazes de inibir ou potencializar eventos mediados pelos receptores NMDA, e κ que antagonizam a atividade mediada por receptores NMDA.

Há interneurônios capazes de expressar encefalina e dinorfina, que são peptídeos que inibem a liberação de glutamato e SP através de interações com receptores μ (OP3), δ (OP2) e κ (OP1) (PISERA, 2005; DREWES, 2006).

Os peptídeos opioides, além de possuírem uma ação medular, participam da ativação de sistemas de inibição descendentes, que conseqüentemente, inibem a descarga dos neurônios GABAérgicos inibitórios. Há uma grande quantidade de receptores μ (OP3) na PAG (PISERA, 2005; DREWES, 2006). Segundo, LAMONT e TRANQUILLI (2000) essa região anatômica é a mais importante para o sistema de analgesia endógeno.

Sendo assim, é possível inibir a ação dos neurônios nociceptivo através tanto da inibição de interneurônios excitatórios ou por estimulação de interneurônios inibitórios. Além disso, ainda ocorre a formação de sinapses com os terminais de aferentes primários, reduzindo a liberação de glutamato e aspartato (PISERA, 2005; DREWES, 2006).

1.3 Inflamação

Então, como já sabemos a ativação dos nociceptores pode ocorrer de diversas formas, uma delas é através da lesão tecidual, que irá desencadear o processo inflamatório tendo como consequência o aumento da permeabilidade capilar e propagação da reação inflamatória. (ROCHA, 2007).

Após um dano celular, o organismo é capaz de responder a esse estímulo hostil, de forma a recuperar o equilíbrio homeostático. Essa resposta é chamada de inflamação, que envolve processos bioquímicos, fisiológicos e imunológicos do organismo. Segundo DASSOLER et al. (2004), a reação inflamatória é caracterizada por cinco sinais: rubor, calor, tumor, dor e perda de função.

Assim que o agente inflamatório atua nas membranas celulares, compostas de fosfolípidios, induz a ação da fosfolipase A₂ na membrana celular provocando a liberação do ácido araquidônico. O ácido araquidônico é metabolizado por três sistemas enzimáticos principais: a cicloxigenase (COX), cuja atuação faz com sejam geradas as prostaglandinas (PG), os tromboxanos e a prostaciclina; a lipoxigenase que provoca a produção de leucotrienos e lipoxinas; e o citocromo p-450 que originam epoxigenases (Figura 4) (ROCHA, 2007).

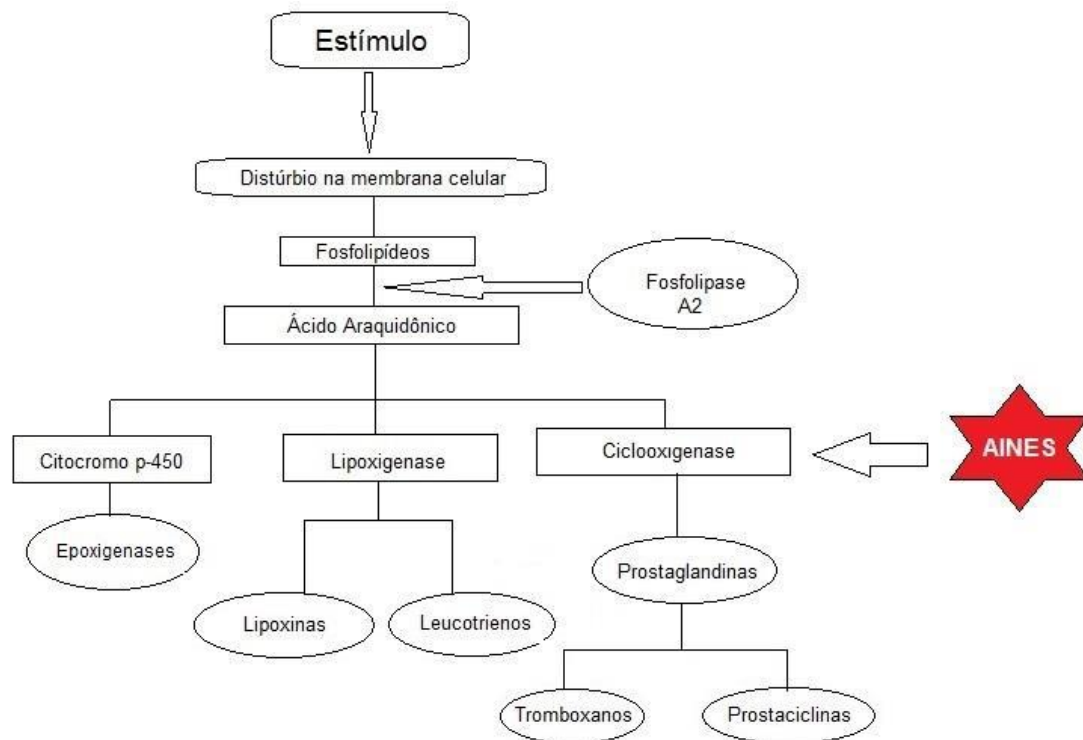


Figura 4: Esquema dos mediadores químicos derivados do ácido araquidônico. (Adaptado de: KATZUNG, 2010).

Além da liberação de mediadores, a complexa cascata inflamatória é reponsável pelo extravasamento de fluidos, migração celular, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e reparo (BECKER, 1983; PIPER, 1983).

Os mediadores inflamatórios como PG, prostacilinas e tromboxanos, controlam a alteração do fluxo sanguíneo, resultando em um aumento da permeabilidade capilar, o que favorece o extravasamento de macrófagos e neutrófilos, e em quimiotaxia, que é o direcionamento das células para o local da lesão (ABBAS et al., 2005)

Os macrófagos e outras células polimorfonucleares são responsáveis por liberar fatores solúveis de regulação da fase aguda da inflamação, as chamadas citocinas. Liberam principalmente a interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e TNF- α , que são responsáveis por estimular as células endoteliais a iniciar o processo de adesão (AKIRA et al., 1990).

A liberação de PG, principalmente a PGE₂, promove uma diminuição limiar de excitabilidade dos nociceptores, ou seja, estímulos menores são capazes de estimular os nociceptores causando dor (BONICA et al.,1990; MEYER et al., 1994). Além disso, com essa estimulação dos nociceptores,

ocorre um reflexo axônico local, o que faz que haja a liberação de neuropeptídeos como a SP e o CGRP. Essa liberação contribui para uma maior estimulação do processo inflamatório, bem como intensificação da hiperalgesia (RANG et al., 1994).

1.4 Tratamentos farmacológicos atuais

Segundo ROCHA (2007), no Brasil e em outros países, 10% a 50% dos indivíduos procuram clínicas gerais por causa da dor; sendo que a dor está presente em mais de 70% dos pacientes que buscam consultórios brasileiros. Atualmente no tratamento da dor são utilizados fármacos analgésicos e adjuvantes, além de fármacos anti-inflamatórios também podem ser empregados. Segundo MENDEL (2003), na verdade, a maioria dos fármacos utilizados na diminuição da dor é de ação anti-inflamatória.

Para facilitar a escolha dos medicamentos no tratamento da dor, a Organização Mundial da Saúde (WHO, 1986) criou em 1986 a Escala Analgésica. Com essa criação, a OMS sugere a organização e padronização do tratamento analgésico da dor baseado em uma escada de três degraus de acordo com a intensidade de dor que o paciente apresenta. O primeiro degrau recomenda o uso de fármacos anti-inflamatórios para dores fracas. O segundo degrau sugere o uso de opioides fracos (tramadol e codeína), que podem ser associados aos anti-inflamatórios do primeiro degrau, para dores moderadas. O terceiro degrau inclui o tratamento com opioides fortes (morfina), associados ou não aos anti-inflamatórios, para dores fortes.

Além desses medicamentos, há também fármacos adjuvantes, como, por exemplo, os glicocorticoides, os agonistas alfa-2 e os antidepressivos tricíclicos, anestésicos locais, anticonvulsivantes, como a pregabalina, que podem ser usados nos três degraus da escada. Outra possibilidade é utilizar o paracetamol ou dipirona como adjuvantes. A escada de três degraus indica classes de medicamentos e não fármacos específicos, proporcionando flexibilidade e possibilidade de adaptação na prescrição de acordo com as particularidades de seu paciente.

O uso do paracetamol e da dipirona como adjuvante em certos casos pois possuem atividade analgésica, apesar de não apresentarem efeito anti-inflamatório. Pesquisas apontam que o paracetamol age sobre a isoforma COX-3, que é expressa em nível central, o que evita a ocorrência de efeitos adversos cardiorrenais ou gastrointestinais, e ainda o paracetamol é capaz de ativar o sistema endocanabinóide e, conseqüentemente, inibir a liberação de neurotransmissores clássicos. Já sobre a dipirona, há diversos relatos de seu uso como adjuvante no tratamento de dores pós-operatórias, em cólicas nefríticas, crises de enxaqueca e dores desencadeadas por câncer (NETO, 2009; SAITO et al., 2010).

Já sobre o uso dos glicocorticoides, sabe-se que altas doses e/ou o uso contínuo destes medicamentos pode trazer uma série de problemas ao organismo. Essas alterações são bem conhecidas e incluem efeitos metabólicos e endócrinos como por exemplo: hiperglicemia, alteração no metabolismo das proteínas e retenção de sódio e água, além de supressão do eixo hipotálamo hipófise-adrenal, com queda na secreção de corticoides endógenos e síndrome de Cushing (FATTAH et al., 2005, KIM et al., 2009).

Os fármacos agonistas dos receptores α -2 adrenérgicos são capazes de produzir analgesia através da ação em estruturas espinhais e supra-espinhais. A administração de doses reduzidas de agonistas α -2 adrenérgico em qualquer um destes locais induz analgesia com mínimos efeitos adversos (GUIRRO et al., 2009; VALVERDE, 2010).

No caso dos antidepressivos, CLARK (2000) sugere que o efeito de analgesia dos antidepressivos é mediado pelo bloqueio da norepinefrina e recaptação da serotonina, o que faz com que haja um aumento nos níveis destes neurotransmissores e um aumento da ativação de neurônios inibitórios descendentes. O primeiro antidepressivo registrado para o tratamento da dor foi a imipramina em 1960, sendo que foi prescrito para a nevralgia do trigêmeo (CLARK, 2000).

1.4.1 Analgésicos opioides

Uma classe de fármacos utilizada no tratamento da dor são os analgésicos opioides, que são empregados em casos de dor aguda e,

principalmente, de dor crônica. Porém, seu uso é feito com maior precaução devido a seus efeitos adversos, que podem ser graves (McQUAY, 1999). Os opioides são bem eficientes contra a dor nociceptiva, contudo, a dor neuropática não costuma responder bem a esses fármacos e pode exigir doses maiores desses analgésicos (FIELDS, 1988; COLOMBO et al., 2006).

Qualquer substância, natural ou sintética, cuja ação analgésica é semelhante aos efeitos da morfina e que possua a naloxona como antagonista é um opioide (RANG et al., 2008). Os analgésicos opioides são comumente empregados no tratamento da dor aguda e crônica moderada, como em associações em pós-operatórios, cólica renal ou biliar, infarto agudo do miocárdio e câncer (CLAYTON e STOCK, 2006; BODNAR et al., 2008).

Os analgésicos opioides são agonistas de receptores específicos que podem ser classificados em três tipos clássicos: μ (mi), κ (kappa), e δ (delta) (WAY et al., 2002; STEIN et al., 2009). Esses receptores diferem pela afinidade que possuem com ligantes opioides endógenos. Por exemplo, a encefalina é seletiva para os receptores δ ; a dinorfina é seletiva para o receptor κ ; e a endorfina tem alta afinidade pelos receptores δ e μ e baixa afinidade pelo receptor κ (LORD et al., 1977; GOLDSTEIN & NAIDU, 1989).

Esses receptores são encontrados principalmente no SNC: nos nervos que realizam a transmissão e modulação da dor, na medula espinhal e no cérebro (MANSOUR et al., 1994). Mas quando há um processo inflamatório esses receptores são expressos no sistema nervoso periférico. Por estarem presentes nas fibras C dos nervos aferentes primários, previnem a ativação e sensibilização dessas fibras e inibem a liberação de neurotransmissores (STEIN et al., 1993).

Os receptores opioides são receptores acoplados a proteína Gi (DHAWAN et al., 1996), ou seja, inibe a adenilato ciclase, fazendo com que haja a redução de AMPc (adenosina monofosfato cíclico), conseqüente inibição de canais de cálcio dependente de voltagem, além de ativação dos canais de potássio. Assim, ocorre uma hiperpolarização da membrana, ocorrendo um efeito inibitório, ou seja, bloqueia-se a via ascendente da dor, não ocorrendo a transmissão do sinal da dor. Outra forma de ação dos receptores opioides é

através da inibição de interneurônios GABAérgicos, que ao serem inibidos ativam a via descendente da dor (NORTH, 1993; WAY et al., 2002).

A maioria dos analgésicos opioides age quando são reconhecidos pelo receptor μ , como é o caso da morfina e análogos. Os analgésicos que atuam sobre o receptor δ não conseguem atravessar a barreira hematoencefálica, mas ainda assim são potentes ao agir na periferia. Já os analgésicos que agem sobre o receptor κ , só induzem a analgesia em locais espinhais (GUTSTEIN e AKIL, 2003; MERRER et al., 2009).

Porém, o uso dos opioides é feito com cautela, pois os efeitos adversos são graves, como depressão respiratória, dependência física e psicológica, além de tolerância, ou seja, o paciente irá precisar de doses cada vez maiores para atingir o efeito analgésico. Há ainda outros efeitos adversos, relatados com maior frequência, após o uso de opioides como: cefaleia leve, confusão, sedação, náusea, vômitos, sudorese, desorientação, hipotensão ortostática e constipação (JEFFE et al., 1996; OSSIPOV et al., 2003; CLAYTON e STOCK, 2006; ZÖLLNER e STEIN, 2007; MERRER et al., 2009).

1.4.2 Anti-inflamatórios não esteroidais

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) são uma das classes de medicamentos mais utilizados. São indicados não só para combater inflamações, mas agem também como analgésicos, antipiréticos e antiagregante plaquetário (DUBOIS et al., 1998).

Segundo VANE (1971), os AINES tem a função de reduzir a produção das PGs, prostaciclina e tromboxano através da inibição da enzima COX, e consequentemente, reduz a intensidade do processo inflamatório.

Das três isoformas existentes das cicloxigenases, a COX-1 é a isoforma expressa de forma constitutiva no organismo na maioria dos tecidos. A isoforma COX-2, que possui cerca de 60% de homologia na cadeia de aminoácidos com a COX-1, também é expressa de forma constitutiva e não somente mediante processos inflamatórios, como se pensava (CRYER et al., 1998; VANE et al., 1998; HOWARD et al., 2004). Já a COX-3 é derivada de genes da COX-1 e é expressa no córtex cerebral e no coração

(CHANDRASEKHARAN et al., 2002). A presença da COX-3 no córtex cerebral supostamente explica o porquê do paracetamol ser utilizado como analgésico e antipirético, mesmo tendo baixa afinidade pela COX-1 e COX-2 e sem ter um efeito anti-inflamatório (FLOWER e VANE, 1972). É essa suposição que norteia as pesquisas relativas à existência dessa terceira isoforma.

A COX-1 desempenha papéis fundamentais na manutenção da homeostase de vários tecidos. Na mucosa gástrica, por exemplo, a COX-1 é responsável por produzir a PGE₂, que é um mediador químico essencial para que a mucosa gástrica fique protegida (ANTMAN et al., 2007). Ou seja, se houver uma inibição prolongada da COX-1, o suco gástrico pode agir livremente podendo causar erosão, ulceração, perfuração e hemorragia na mucosa gástrica. O risco anual de acontecer complicações graves, como sangramentos e perfurações no estômago, é de 1% a 4% no tratamento crônico com AINES, como, por exemplo, em casos de tratamento de artrite reumatoide (BATLOUNI, 2010).

A COX-1 aparece como peça chave na manutenção da homeostase cardiovascular, pois nas plaquetas há a presença somente a isoforma 1 das cicloxigenases, a qual ao estar ativa produz tromboxano A₂, que é um mediador químico que desempenha função essencial na agregação plaquetária, vasoconstrição e proliferação de células musculares lisas (ANTMAN et al., 2007). É importante relatar, ainda sobre os efeitos cardiovasculares, que a isoforma 2 é responsável por produzir prostaciclina. Esse mediador, ao ser sintetizado nas células endoteliais vasculares, provoca relaxamento, ou seja, é um potente vasodilatador. Além disso, é capaz de interagir com receptores das plaquetas resultando em uma ação antiagregante (ANTMAN et al., 2007). Dessa forma, se houver um bloqueio seletivo da COX-2, por exemplo, acarretaria no aumento do risco de desenvolvimento de trombose e eventos vasculares. Por outro lado, o bloqueio da COX-1, com ácido acetilsalicílico, é utilizado na prevenção de trombose.

Outro sistema influenciado pela COX-1 é o renal, pois as PGs, sintetizadas por essa isoforma, causam dilatação vascular renal, diminuindo a resistência vascular renal e aumentando a perfusão do órgão. Um bloqueio desse mecanismo pode acarretar em diminuição da perfusão renal total, o que redistribui o fluxo sanguíneo para o córtex, podendo até causar vasoconstrição

renal aguda, isquemia medular e, em casos graves, insuficiência renal aguda (OATES et al., 1998; WHELTON, 1999).

Contrariando o que se pensava antes, a COX-2 também é expressa de forma constitutiva no rim e regula algumas alterações no volume intravascular, uma vez que as PG derivadas desta isoforma são importantes mediadores na libertação de renina, equilíbrio das concentrações de sódio e água e na manutenção do fluxo sanguíneo renal (CHENG e HARRIS, 2005). Uma inibição desses mediadores causaria uma redução na formação de aldosterona, e conseqüente acúmulo de K^+ (hipercalemia), quadro preocupante caso o paciente utilize algum medicamento inibidor da enzima de conversão da angiotensina (ECA) e diuréticos poupadores de potássio, o que poderia causar um aumento da pressão arterial (BLUM et al., 1980; WHELTON, 1994).

Todavia, essas complicações renais induzidas pelos AINES são reversíveis mediante a suspensão do uso desses fármacos. A não ser que o quadro do paciente seja muito grave, o que é raro, levando, por exemplo, ao desenvolvimento de disfunção renal aguda e síndrome nefrótica (BATLOUNI, 2010).

Há também outros sistemas que podem ser afetados pelo uso do AINES, embora sejam casos raros. Podem ocorrer efeitos no SNC como meningite asséptica, psicose e disfunção cognitiva, sendo que os dois últimos são mais comuns em pacientes idosos, particularmente com o uso da indometacina. Meningite asséptica parece ser mais prevalente em paciente com lúpus eritematoso sistêmico em tratamento com AINEs (RODRÍGUEZ et al., 2006).

Problemas hematológicos também podem ocorrer. Os AINEs devem ser evitados em pacientes com deficiências plaquetárias prévias e naqueles com trombocitopenia (PATRONO, 1994). Além disso, alterações hepáticas como insuficiência hepática são raras, porém elevações de transaminases associadas ao uso de AINEs são comuns (ROSTOM et al., 2005). Relatos de quadro grave de hepatotoxicidade foram relacionados ao uso de diclofenaco de sódio, particularmente (O'BEIRNE, 2001). Recomenda-se a dosagem das enzimas e testes de função hepáticas oito semanas após o início da terapia crônica com AINE.

Baseado nessas ações da COX-1, foram desenvolvidos novos fármacos com inibição seletiva da COX-2, os COXIBES, o que deveriam trazer menos

efeitos adversos. Porém, novos estudos tem demonstrado a presença de COX-2 em diversos tecidos, não sendo presente somente na ocorrência de inflamações, como se pensava antes (KUMMER et al., 2002).

Pacientes que apresentavam infecções ou úlceras gástricas já formadas, como as causadas pelo *Helicobacter pylori*, foi possível perceber uma maior expressão de COX-2 nas células epiteliais do estômago, o que contribuía para a produção de prostaglandinas e conseqüente processo de cicatrização dessas lesões. Desta forma, se o paciente estivesse utilizando um COXIBE, esse processo de cicatrização poderia ter sido retardado, ou ainda aumentar a chance da invasão de micro-organismos no tecido lesado (DUBOIS et al., 1998; EMERY, 2001; FITZGERALD, 2001). Ainda assim, foi observado que esses medicamentos não são capazes de iniciar o dano gástrico, como acontece com AINES convencionais (SCHNITZER, 2001).

KEARNEY et al., (2006), fizeram uma meta-análise comparando o uso AINEs tradicionais, inibidores seletivos da COX-2, dos quais 45% desenvolveram risco para infarto do miocárdio após utilização dos COXIBES. Alguns estudos indicam que, juntos, o rofecoxibe e o celecoxibe tenham causado mais de 26 mil mortes nos cinco primeiros anos de sua liberação no mercado americano (HORTON, 2004). Essas evidências são tão graves, que grande parte dos COXIBES foram retirados do mercado. Atualmente, no Brasil, apenas o celecoxibe e o etoricoxibe são comercializados, ambos com retenção de receita médica e com clara indicação dos riscos de complicações cardiovasculares (ANVISA, 2008).

1.5 Plantas naturais como fonte de novas substâncias biologicamente ativas

Sabe-se que o uso de plantas medicinais como terapia alternativa é uma prática utilizada há décadas. Com o passar dos anos, esses produtos naturais tem sido cada vez mais incorporados no desenvolvimento de importantes terapias medicamentosas utilizadas na medicina moderna (FIRMO et al., 2011).

Uma das necessidades mais antigas da humanidade é o uso de substâncias químicas para tratar a inflamação e a dor. Há 3400 anos a.C, na Suméria, a papoula (*Papaver somniferum*) era cultivada e conhecida como a

“planta da alegria”, devido os efeitos eufóricos causados por esse extrato vegetal. MARTINS et al. (2012) relataram que a partir da extração do látex da papoula é possível obter até 10% de alcaloides medicinais, em especial a morfina, que é diluída em ácido e neutralizada com amônia do ópio. Foi a partir daí que foram desenvolvidos os fármacos da classe dos analgésicos opioides.

Já em relação aos anti-inflamatórios, após o isolamento da salicilina da espécie *Salix alba* em 1829, demorou um certo tempo para chegar a produção do ácido acetilsalicílico (AAS), muito conhecido e utilizado hoje. Segundo MONTEIRO et al. (2008), foi só em 1898 que o AAS foi produzido, e em 1899, depois que seu efeito anti-inflamatório foi comprovado, que passou a ser produzido com o nome de Aspirina. Então, novos fármacos foram desenvolvidos, formando então a classe dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINES).

Baseado nesses fatos, muitas pesquisas tem sido realizadas na busca por plantas que possuam novos agentes farmacologicamente ativos. Essas pesquisas tem obtido relativo sucesso nos últimos anos, porém o mercado de medicamentos ainda tem uma forte necessidade do desenvolvimento de novos analgésicos que sejam potentes e efetivos, principalmente no tratamento da dor crônica. Segundo SHU (1998), milhares de pacientes com dores intensas, resultantes de injúrias ou até mesmo de câncer, tem dependência do uso de morfina, o que traz muitos efeitos adversos.

Estima-se que das 300 mil espécies vegetais existentes no mundos, cerca de 15% tenham sido avaliadas para fins científicos (NOGUEIRA et al., 2010). No Brasil estima-se que apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos (NODARI et al., 2003). CYSNEIROS et al. (1996), observaram que o Brasil é um país que possui solos ricos, clima tropical favorável, flora diversificada e uma população culturalmente adaptada ao uso de plantas. No município de Quissamã, situado no norte do estado do Rio de Janeiro, encontra-se a maior parte do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PNRJ), que é o único parque nacional em área totalmente de restinga, a qual é uma das mais conservadas do país (Zoneamento Agroecológico da Restinga, 1994). Esse parque contém inúmeras espécies vegetais, dentre as espécies vegetais existentes no PNRJ (Figura 5) está a *Passiflora mucronata* (*P. mucronata*).



Figura 5: Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. (Retirado de Macaé em pauta, 2012. Disponível em: <<http://macaeempauta.blogspot.com.br/2012/06/parque-restinga-de-jurubatiba-macae-e-e.html>>. Acesso em 04/10/2015).

1.6 Família Passifloraceae e o Gênero *Passiflora*

A família Passifloraceae que é composta por doze gêneros, dois quais quatro são encontradas no Brasil: *Dilkea*, *Tetrastylis*, *Mitostemma* e *Passiflora*. Segundo SACCO (1980), o gênero *Passiflora* é encontrado em todo o país. Originário da América do Sul, o gênero *Passiflora* está mais presente, geograficamente, no centro-norte do Brasil, e apresenta um grande número de espécies com ampla variabilidade fenotípica.

O maracujá-amarelo, cujo nome científico é *Passiflora edulis* (*P. edulis*), é uma das plantas medicinais mais utilizadas no Brasil (CAVALCANTE, 1976). SILVA et al. (2001) comprovaram atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e antipirética em camundongos e ratos tratados com extrato etanólico das folhas de *P. edulis* (0,5; 1 e 2 mg/kg), após testes de contorção abdominal, edema de pata e febre induzida por levedura de cerveja. Além disso, o extrato aquoso liofilizado das folhas de *P. edulis* (250 mg/kg) foi capaz de inibir a produção de

mediadores químicos como leucócitos, neutrófilos, TNF alfa e IL-1 ao ser administrado em camundongos no teste da pleurisia induzida por carragenina (MONTANHER et al., 2007).

Os flavonoides encontrados, através de espectrometria de massas e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), no gênero *Passiflora* são do tipo C-glicosídeos, que são pigmentos polifenólicos abundantes em plantas (QIMIN et al., 1991; BOKSTALLER e SCHIMIDT, 1997).

Segundo MENGHINI et al. (1988), o maior acúmulo de flavonóides encontrado em cromatografia de camada delgada foi nas folhas. FREITAS (1985) e MORAES et al. (1997) confirmaram a presença de flavonoides como orientina, vitexina, isovitexina, isoorientina e rutina em folhas de *P. edulis*.

Pesquisas de HARBONE e BAXTER (1995) destacam que os alcaloides presentes no gênero *Passiflora* são tipo indólicos, que compreendem o segundo grupo de alcaloides mais conhecidos atualmente e têm sido utilizados pela Medicina como tranquilizantes e no tratamento da hipertensão.

Segundo LUTOMSKI et al. (1975), o suco obtido da fruta de *P. edulis* foi capaz de causar um efeito sedativo em camundongos ao ser administrada via oral. Esse efeito foi atribuído à presença de alcaloides do grupo harmana e flavonoides.

Há também resultados de pesquisas sobre outras espécies do gênero *Passiflora*. BORRELLI et al. (1996) relataram a atividade anti-inflamatória do extrato hidroetanólico liofilizado de *Passiflora incarnata* em ratos, via oral, nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg. Os flavonoides encontrados na *P. incarnata* são derivados da apigenina e luteolina (GEIGER e MARKHAM, 1986). Além disso, foi descrita a presença do flavonóide vitexina na *P. incarnata* L., que é responsável pelas atividades hipotensora, anti-inflamatória e antiespasmódica (PRABHAKAR et al., 1981).

A *P. incarnata* é a espécie mais estudada quanto à presença de alcaloides. Estudos de REHWALD et al. (1995) identificaram, através de HPLC usando detectores de arranjo de diodos e de fluorescência, cinco alcaloides: harmina, harmol, harmalina, harmalol e harmana com alta resolução. Esses alcaloides, presentes na *P. incarnata* L., são beta-carbolinas (derivados da serotonina e do triptofano) normalmente presentes no organismo; são

inibidores da enzima monoaminoxidase (MAO), e apresentam ação agonista com os receptores GABA e benzodiazepínicos (GHEDIRA, 2007).

Há também dados sobre a *Passiflora foetida*. SASIKALA et al. (2011) provaram através do teste de contorção abdominal, que o extrato etanólico das folhas de *P. foetida* tinha um efeito analgésico dose-dependente. Além disso, observaram que, no teste do edema de pata induzida por carregenina, o mesmo extrato etanólico apresentava um efeito anti-inflamatório significativo na dose de 100 mg/kg. Os autores ainda atribuíram os resultados obtidos a possível presença de ácidos orgânicos, flavonóides e triterpenos que são comumente responsáveis por tais efeitos e são encontrados com certa facilidade em plantas.

Apesar de possuir estudos farmacológicos para outras espécies do gênero *Passiflora*, ainda não se tem validação científica da espécie *P. mucronata* (Figura 6) (RAMAYIA, 2014).



Figura 6: *Passiflora mucronata*.
(Disponível em: <<http://www.brazilplants.com/passifloraceae/passiflora-mucronata-m.html>> Acesso em: 04/10/2015)

2. Justificativa

Baseado no fato de que os analgésicos opióides utilizados para dores agudas e crônicas possuem diversos efeitos colaterais, como tolerância, dependência física, depressão respiratória, devido suas ações sobre o sistema nervoso central; e os AINES seletivos aumentam o risco de trombose e consequente infarto agudo do miocárdio, houve uma intensificação nas pesquisas a procura por novos medicamentos que possuam menos efeitos adversos e que sejam uma alternativa frente esses medicamentos.

Desta forma, a relevância deste projeto é a busca pelo efeito antinociceptivo e anti-inflamatório, já descrito em outras espécies do gênero *Passiflora*, mas ainda não estudado quando se trata da espécie *Passiflora mucronata*, e que se possa utilizar esses resultados como fonte de desenvolvimento de um novo fármaco analgésico, mais eficaz e com menos efeitos adversos.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico e das frações das folhas de *P. mucronata*, coletadas no PNRJ.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a atividade antinociceptiva do extrato hidroalcoólico (EPM), frações e do extrato do fluido supercrítico (ESF 22045) da *P. mucronata*, nos testes de contorções abdominais e da formalina;
- Estudar a atividade antinociceptiva de ação central do EPM e frações da *P. mucronata*, utilizando o teste de placa quente;
- Avaliar o efeito anti-inflamatório do EPM no teste de placa quente modificado.

4. Materiais e Métodos

4.1 Extratos

O extrato hidroalcoólico (EPM) e as frações das folhas de *P. mucronata* utilizados foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Produtos Bioativos do Campus UFRJ-Macaé.

Os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) e utilizados nas doses de 10, 20 e 30 mg/kg via intraperitoneal.

4.2 Coleta dos extratos

As partes aéreas da *P. mucronata* foram coletadas nos meses de fevereiro de 2011 e julho de 2013 no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, no município de Quissamã – RJ. A identificação botânica foi realizada pela Dr^a Tatiana Ungaretti Paleo Konno, do NUPEM, UFRJ/ Macaé, e as exsiccatas foram depositadas no herbário da Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob o número RFA38758.

4.3 Obtenção do extrato bruto por maceração convencional

Os materiais vegetais foram devidamente acondicionados em erlemeyer e extraídos com etanol/água (85:15) à temperatura ambiente por cerca de 3 a 5 dias, com constante renovação do solvente. Para isso, 50,4 g das folhas secas foram trituradas em liquidificador de uso doméstico com 75 ml de água destilada, e a este foram adicionados 429 ml de etanol. O macerado obtido foi filtrado e concentrado em evaporador rotatório para obtenção do extrato bruto hidroalcoólico. O material aquoso remanescente foi liofilizado.

4.4 Partição do extrato hidroalcoólico das folhas

O extrato hidroalcoólico obtido da folha foi ressuspenso em 160 mL de uma solução de metanol:água (9:1) e, posteriormente submetido a um processo de partição líquido-líquido com solventes de polaridade crescente: hexano e diclorometano (obtenção dos terpenos) e, acetato de etila e butanol (obtenção dos flavonoides). Para isso foi realizado o processo de partição

líquido-líquido utilizando com 6,9611g de extrato das folhas. A este extrato foram adicionados 160 mL de hexano. Em seguida, o extrato hidroalcolico foi evaporada em banho-maria, transferida à um frasco de vidro e o extrato aquoso remanescente encaminhado para congelar e liofilizar. Depois a fração metanólica foi ressuspensa em 250 mL de água, realizando assim as partições com diclorometano, acetato de etila e butanol. Em seguida as partições foram transferidas para frascos tarados e levadas ao banho-maria, até a evaporação dos solventes, obtendo-se assim a massa de cada fração.

4.5 Obtenção do extrato por Fluido Supercrítico

Os experimentos foram realizados com as folhas coletadas em 2013 no Laboratório do Prof. Lucio Cardozo Filho, na Universidade Estadual de Maringá (UEM) – Paraná.

O aparelho ao qual foram preparados os extratos apresenta um cilindro de CO₂ (Air Liquid 95% pureza), dois banhos termoestáticos, duas bombas seringa (ISCO, Model 500D) e um extrator com volume interno de aproximadamente 57,94 cm³. Foram utilizadas pressões entre 15.00 MPa e 22.00 MPa e temperaturas entre 298,15K e 318,15K. Os parâmetros utilizados foram de acordo com LEMOS et al. (2012) que visam a extração de terpenoidais.

As folhas, secas em temperatura ambiente, foram trituradas em liquidificador de uso doméstico. Posteriormente, para reduzir os seus tamanhos, elas foram trituradas mais uma vez em processador de uso doméstico, até apresentar textura de pó. Em seguida, foram separados aproximadamente 10 g de folhas trituradas em sacos plásticos de tamanho médio e transparente.

Foram armazenados no extrator aproximadamente 10 g de cada amostra analisada (folhas). O espaço vazio do extrator foi preenchido por esferas de vidro (*inert bed*), pelas quais o dióxido de carbono atravessa e, em seguida, alcança o material vegetal.

4.6 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* (*Mus musculus*) machos (Figura 7), com peso variando entre 18 e 25 g, provenientes do Biotério de Experimentação com Roedores do Instituto Macaé de Ciência e Tecnologia (IMCT) da Universidade Federal do Rio de Janeiro campus Macaé.

Os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 5 animais, recebendo ração padrão e água ad libitum. A manipulação dos animais, antes, durante e depois dos experimentos, foi conduzida de acordo com as regras de manipulação de animais de laboratório, preconizadas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

Todos os experimentos foram realizados após a provação pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da UFRJ (CCS-UFRJ), sob protocolo MACAÉ02.



Figura 7: Camundongo *Swiss*. (Disponível em: <<http://osu.ppy.sh/u/4083662>> Acesso em: 04/10/2015)

4.7 Modelos de nocicepção

4.7.1 Teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

Foi realizado o ensaio de contorção abdominal induzido por ácido acético no grupo de camundongos pelo método de KOSTER et al. (1956).

Os camundongos foram pré-tratados com o EPM ou frações da *P. mucronata* (10 mg/kg), via i.p. 30 min antes da injeção de ácido acético. Nos animais controle foi injetado o veículo dimetilsulfóxido (DMSO, 30 µl), e os

controles positivos receberam injeção i.p. de indometacina (10 mg/kg) VACHER et al. (1964).

Ácido acético (0,8% v/v, 0,40 ml/camundongo) foi administrado por via *i.p* e após 5 min, o comportamento nociceptivo foi quantificado durante um período de 10 minutos COLLIER et al. (1968). A resposta de contorção consiste em contração do músculo abdominal com estiramento das patas traseiras.

Foi também testado um extrato preparado no fluido supercrítico, cujo método faz a extração com dióxido de carbono em diferentes pressões e temperaturas, diferente da forma convencional em que se utilizam solventes. Foi testado o extrato 22045, ou seja, que foi extraído nas seguintes condições: 220 Bar de pressão e 45°C de temperatura (ESF22045).

A atividade antinociceptiva foi determinada tomando-se como base a inibição do número de contorções dos animais tratados, quando comparados ao número de contorções dos animais tratados com o veículo DMSO.

4.7.2 Teste da Formalina

O ensaio foi realizado pelo método de HUNSKAAR et al. (1986). Cada animal recebeu uma injeção subcutânea de formalina (2,5%, 20 µl) na região plantar da pata traseira direita TJOLSEN et al. (1992). O comportamento nociceptivo foi quantificado pelo número de lambidas na pata que recebeu a injeção por dois períodos: de 0 a 5 minutos (fase neurogênica ou aguda) e de 15 a 30 minutos (fase inflamatória); após a injeção. EPM ou frações da *P. mucronata* (10 mg/kg) foram administrados por via intraperitoneal 30 min antes do teste e a atividade antinociceptiva foi expressa como redução do número de lambidas. Nos animais controle foi injetado, via i.p, o veículo (DMSO, 30 µl), e os controles positivos receberam injeção i.p. de 10 mg/kg de morfina (ALMEIDA et al., 2012), ambos 30 min antes do teste.

4.7.3 Teste da Placa Quente

O teste da placa quente consiste em colocar os animais sobre uma placa quente e quantificar o tempo que o animal permanece na placa sem levar as patas dianteiras à boca (WOOLFE e MC DONALD,1944; NOBRE et al. 2013).

Esse teste tem como objetivo determinar a atividade analgésica central do extrato.

Foi medida a respostas nociceptiva dos camundongos quando colocados em uma placa aquecida sobre uma temperatura constante de 54°C (Insight, mod. EFF-361). A latência como uma resposta ao estímulo nociceptivo foi gravado nos tempos: 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração do veículo (DMSO, 30 µl), EPM (10, 20 e 30 mg/kg), EFS 22045 (10 mg/kg), frações da *P. mucronata* (10 mg/kg) ou controle positivo (morfina 10 mg/kg). O tempo de latência foi definido como o tempo até sua lambida da pata. Foi estipulado um tempo máximo de permanência na placa de 30 s, a fim de evitar lesões teciduais.

4.7.4 Teste da Placa Quente Modificado

O ensaio foi realizado baseado no método de LAVICH et al. (2005). Esse teste tem como objetivo medir a nocicepção inflamatória induzida pela carragenina.

Em grupos distintos de animais foram administrados, via *i.p.*, o veículo DMSO (grupo controle), EPM (30 mg/kg) e a indometacina (4 mg/kg), como controle positivo. Após o período de 1 hora, foi administrado na pata esquerda traseira carragenina (500 µg/pata) e na pata direita traseira foi administrada uma solução de salina (NaCl 0,9%), ambos no volume de 50µl. Então, esses animais foram colocados, individualmente, numa placa quente (Insight, mod. EFF-361), cuja temperatura estava em 51°C, nos tempos de 15, 60, 180 e 360 minutos, após a injeção subplantar nas patas traseiras. Foi estipulado um tempo máximo de permanência na placa de 25 s, a fim de evitar lesões teciduais.

O tempo de latência (tempo de agitação/ elevação) em cada pata traseira foi gravado manualmente com um cronômetro, então foi calculado se houve a diminuição da hiperalgesia de calor, através da diferença do tempo de latência da pata direita traseira com o tempo de latência da pata esquerda traseira.

4.8 Análise Estatística

Todos os dados foram expressos como média \pm erro padrão da 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 Dunnett (Prism 5.0). As diferenças entre os grupos experimentais e o grupo controle (DMSO) foram consideradas estatisticamente significativas quando $P < 0,05$.

5. Resultados e discussões

Por pertencer a um gênero cujo já se há evidências dos efeitos anti-inflamatório, analgésico, antipirético, entre outros; e ainda não possuir validação científica de suas atividades, a investigação da espécie da *P. mucronata*, é justificada. Além de que, as espécies vegetais são uma fonte promissora para descoberta de novos fármacos.

5.1 Teste contorções abdominais

Nesse teste (n= 4-10 em cada grupo) observamos que o extrato hidroalcoólico da *P. mucronata*, e as frações hexânica, dicloromêtânica e o extrato extraído no fluido supercrítico (ESF22045) diminuíram significativamente o número de contorções abdominais de $27,2 \pm 2,94$ s (DMSO) para $7,4 \pm 4,7$ s ($P < 0,05$); $8,5 \pm 4,1$ s ($P < 0,05$); $2,8 \pm 1,1$ s ($P < 0,05$) e $2,0 \pm 1,5$ s ($P < 0,05$), respectivamente (Figura 8). Já as frações em acetato de etila, butanólica e aquosa não foram capazes de apresentar efeito antinociceptivo no teste de contorções abdominais, $12,6 \pm 4,6$ s ($P > 0,05$); $16,0 \pm 4,1$ s ($P > 0,05$) e $17,3 \pm 5,6$ s ($P > 0,05$), respectivamente. (Figura 8).

Além disso, a indometacina, utilizada como controle positivo nesse teste, diminui significativamente o número de contorções para $9,2 \pm 5,3$ s (Figura 8).

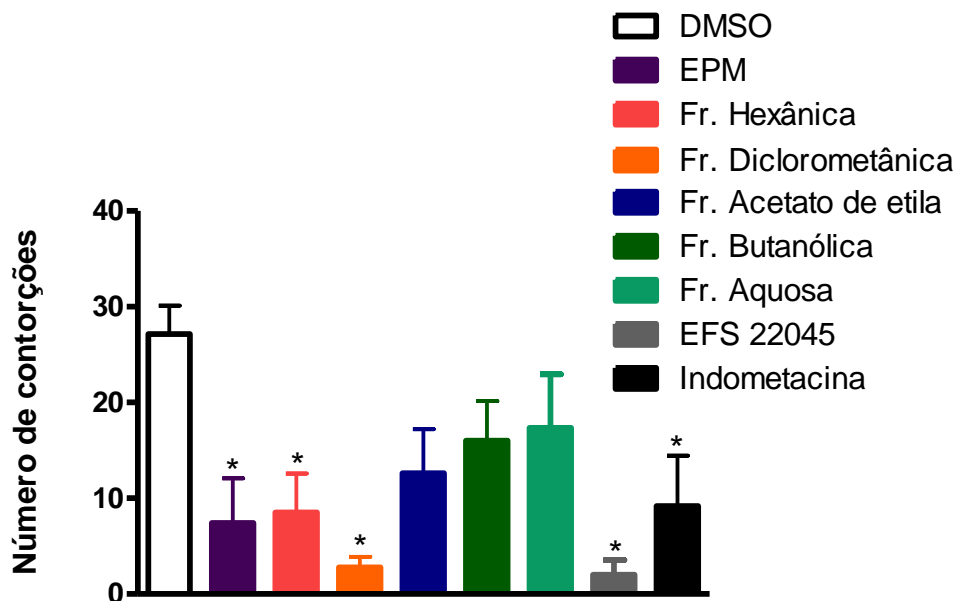


Figura 8: Teste de contorções abdominais realizado em camundongos. Foi injetado via *i.p* DMSO (controle), EPM, frações de *P. mucronata*, EFS 22045 ou a indometacina 30 minutos antes da injeção intraperitoneal de ácido acético, e então contabilizado o número de contorções (n= 4-10) *P<0,05 vs. DMSO.

Esse método é eficiente para avaliar a ação analgésica periférica uma vez que o ácido acético provoca o efeito analgésico através da liberação de substâncias endógenas: serotonina, histamina, PG, SP, que por sua vez estimulam a dor em terminações nervosas (CALIXTO et al., 2000, p. 424).

Foi observado um efeito antinociceptivo do extrato hidroalcoólico de *P. mucronata*, assim como de suas frações hexânica e diclorometânica. Essas frações tem uma característica de serem mais apolares. Em função disso, também foi testado um extrato de *P. mucronata* que foi obtido através de extração por fluido supercrítico, que é um método de extração que possui vantagens como a utilização de solventes, geralmente, gasosos à pressão normal e temperatura ambiente, o que significa que, após a extração, os solventes podem ser facilmente eliminados tanto dos resíduos de extração como do extrato; não utiliza solventes orgânicos, que são normalmente tóxicos, diminuindo assim os riscos de manipulação e minimizando os custos (MAUL et al., 1996). O extrato preparado a uma pressão de 220 Bar e temperatura 45°C, conserva substâncias mais apolares, confirmando assim o efeito antinociceptivo de frações apolares de *P. mucronata* no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Sabe-se que geralmente esse tipo de

extrato possui o triterpeno beta amirina. Apesar de ainda não ter sido feito esse isolamento, já é descrito o efeito anti-inflamatório desse triterpeno (KRISHNAN et al., 2014).

5.2 Teste de formalina

O EPM, na dose de 10 mg/kg, não foi capaz de reduzir significativamente o tempo de reação em nenhuma das fases no teste da formalina (Figura 9). O mesmo ocorreu para a fração butanólica (Figura 9).

Entretanto, na primeira e na segunda fases podemos observar a atividade antinociceptiva da fração diclorometânica que conseguiu reduzir de forma significativa o tempo de reação de $113,8 \pm 9,9$ s (DMSO) para $69,1 \pm 8,0$ s ($P < 0,05$), na primeira fase, e de $294,2 \pm 16,9$ s (DMSO) para $125,7 \pm 22,6$, na segunda fase ($P < 0,05$) (Figura 9).

Morfina, que foi utilizada como o fármaco de referência, diminui o tempo de reação para $38,7 \pm 10,0$ s ($P < 0,05$), na primeira fase; e para $127,0 \pm 39,4$ s, na segunda fase ($P < 0,05$) (Figura 9).

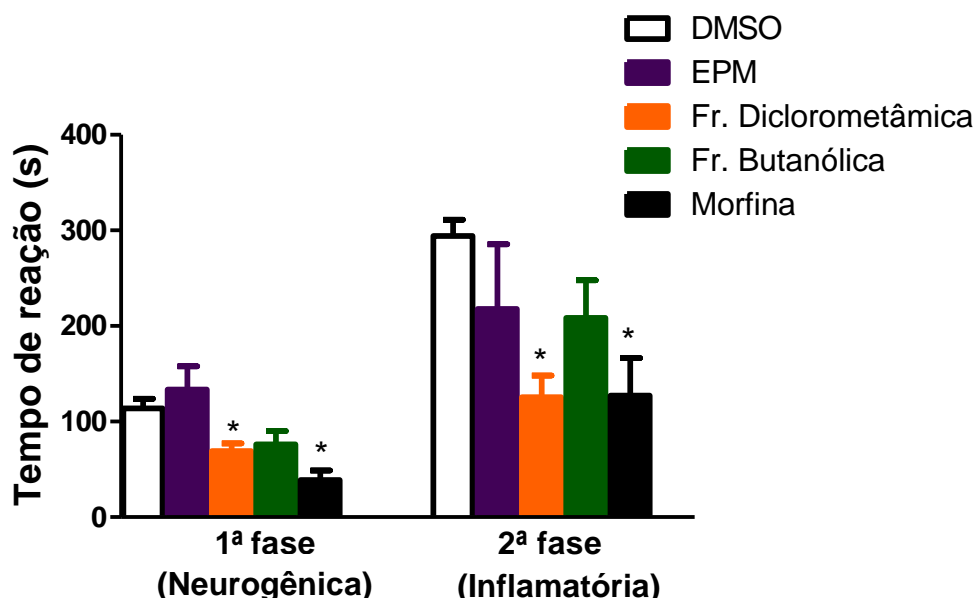


Figura 9: Teste da formalina realizado em camundongos. Foi injetado via i.p. DMSO (controle), EPM, as frações diclorometânica e butanólica de *P. mucronata* e a morfina 30 minutos antes da injeção intraplantar de formalina, e então foi contabilizado o tempo de reação nas duas fases. (n= 4-10) * $P < 0,05$ vs. DMSO.

Tabela 1: Valores do teste da formalina em camundongos. (n= 4-10) *P<0,05 vs. DMSO.

Substâncias	Fases	
	1ª Fase (s)	2ª Fase (s)
DMSO	113,8 ± 9,9	294,2 ± 16,9
EPM (10 mg/kg)	133,5±24,3	217,8 ± 67,7
FR. Diclorometância (10 mg/kg)	69,1 ± 8,0 *	125,7 ± 22,6 *
FR. Butanólica (10 mg/kg)	76,3 ± 14,0	208,5 ± 39,4
Morfina (10 mg/kg)	38,7 ± 10,0 *	127,0 ± 39,4 *

As outras frações não foram avaliadas no teste da formalina devido à falta de material suficiente.

O teste de injeção subplantar de formalina é um modelo mais específico e útil para o rastreio de novos fármacos, pois permite avaliar tanto a dor neurogênica, devido à estimulação direta de neurônios nociceptivos, como a dor inflamatória, devido à liberação de mediadores inflamatórios

A primeira fase de 0 a 5 minutos (fase neurogênica ou aguda) está relacionada com a estimulação química direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e, em parte, das fibras do tipo A δ e está associada à liberação de aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e substância P; e a segunda fase de 15 a 30 minutos (fase inflamatória) está relacionada com a liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, como bradicinina, prostaglandinas e serotonina entre outros (HUNSKAAR e HOLE, 1987).

Através desse teste confirmamos a ação antinociceptiva e anti-inflamatória da fração diclorometânica de *P. mucronata*.

5.3 Teste da Placa Quente

No teste da placa quente (n= 4-10 em cada grupo), o grupo de animais controles que recebeu DMSO i.p. apresentou os tempos de latência de 8,9 ± 1,1 s; 8,9 ± 1,2 s; 9,5 ± 1,1 s; 6,8 ± 0,6 s, nos tempos de 30, 60, 90 e 120 min de avaliação, respectivamente (Figura 10).

O EPM foi testado em três doses e apresentou atividade analgésica apenas na dose de 30 mg/kg, que aumentou de forma significativa o tempo de permanência na placa quente para $13,0 \pm 2,0$ s, no tempo de 120 min ($P < 0,05$) (Figura 10). O EFS 22045 também não apresentou atividade analgésica no teste da placa quente na dose de 10 mg/kg. Morfina (10 mg/kg) foi capaz de aumentar o tempo de permanência na placa quente em $19,1 \pm 2,0$ s ($P < 0,05$); $17,0 \pm 2,0$ s ($P < 0,05$); $15,0 \pm 1,1$ s ($P < 0,05$) e $12,9 \pm 1,7$ s ($P < 0,05$), nos respectivos tempos de avaliação.

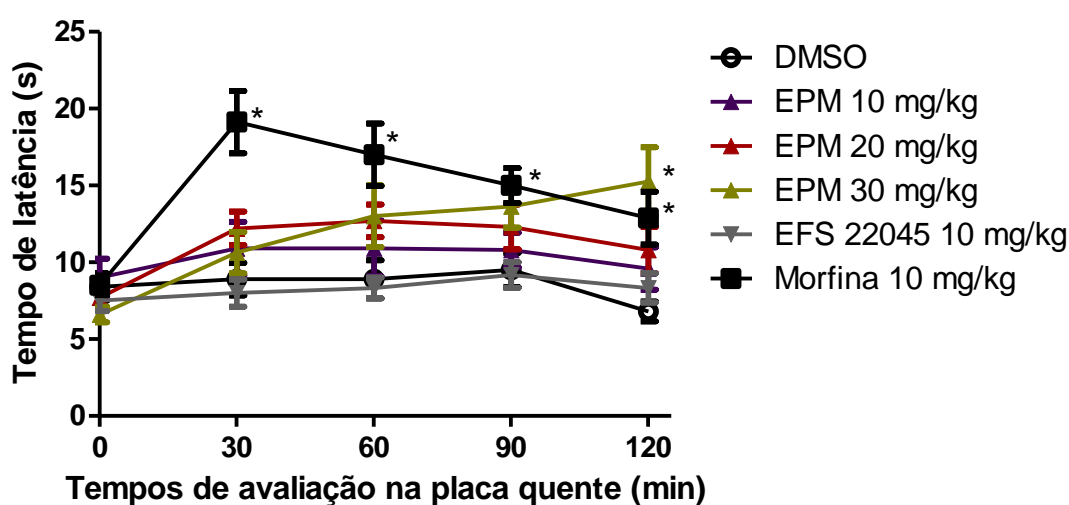


Figura 10: Teste de placa quente, onde foi administrado nos camundongos por via *i.p* o extrato hidroalcoólico em doses crescentes, além do EFS 22045 (fluido supercrítico) e do controle positivo (Morfina) 30 min antes de colocá-los numa placa aquecida a 54°C e então foi quantificado o tempo de latência. ($n = 6-10$) * $P < 0,05$

Posteriormente, foi avaliada a atividade das frações diclorometânica, butanólica e aquosa da *P. mucronata* (10 mg/kg). Porém não foi observada atividade antinociceptiva (Figura 11).

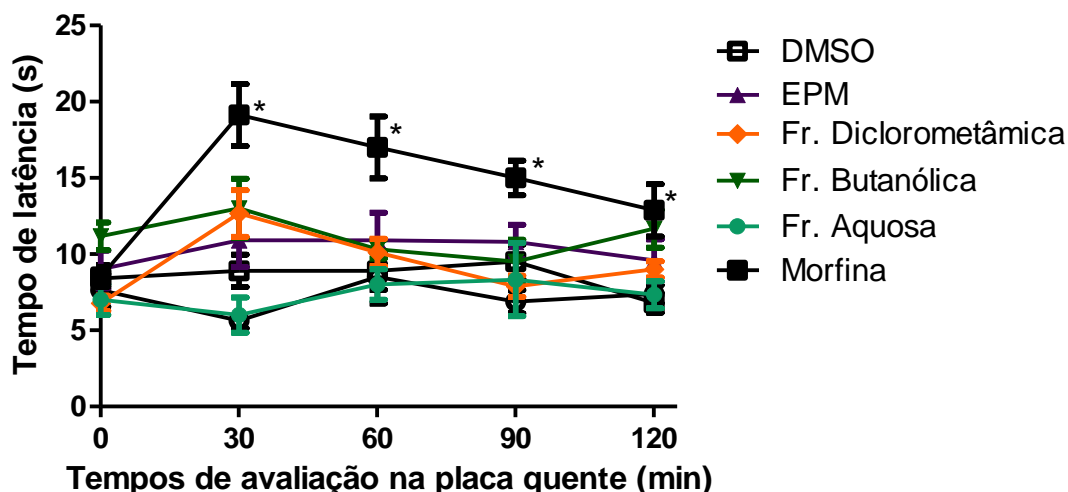


Figura 11: Teste de placa quente, onde foi administrado nos camundongos por via *i.p* o extrato, as frações e a morfina, 30 min antes de colocá-los numa placa aquecida a 54°C e então foi quantificado o tempo de latência. (n = 4-10) *p<0,05

No teste da placa quente as outras frações também não foram testadas porque o material vegetal acabou.

O teste da placa quente mede a resposta nociceptiva aguda de origem não-inflamatória, e é um modelo normalmente utilizado para se estudar as atividades analgésicas centrais, como em fármacos opióides, segundo SABINA et al. (2008).

Esses resultados indicam que o efeito analgésico de *P. mucronata* pode não estar relacionado com a inibição da transmissão central da dor, pois o único efeito observado foi apenas com uma dose mais elevada e tempo mais tardio.

5.4 Teste da Placa Quente Modificada

No teste de placa quente modificada (n= 5-9 em cada grupo), foi observado que o EPM foi capaz de reduzir o tempo de latência da pata em que foi injetada a carragenina, o que reduziu significativamente a variação da latência entre as patas (Figura 12 e Tabela 2). O mesmo foi observado com o grupo controle positivo, que recebeu indometacina (Figura 12 e Tabela 2).

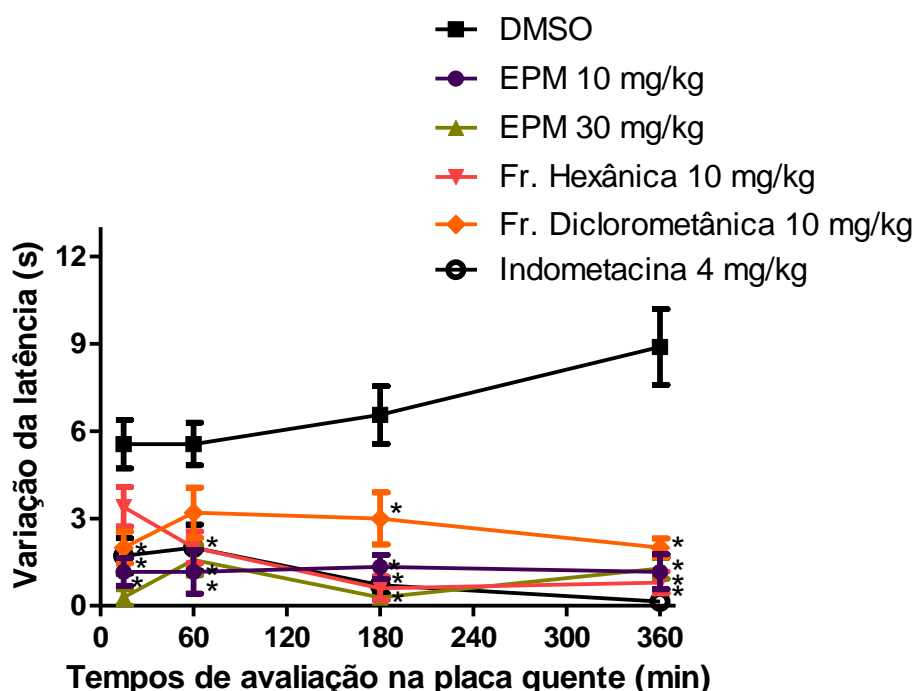


Figura 12: Teste de placa quente modificado em camundongos. Foi administrado via *i.p* DMSO, EPM, Fr. Hexânica, Fr. Diclorometânica ou indometacina, 1 hora antes da injeção de carragenina intraplantar na pata esquerda e salina na pata direita, e contabilizada a latência de cada pata ao colocá-los na placa aquecida a 51°C, 15, 60, 180 e 360 min após a administração. Posteriormente foi calculada a diferença entre as patas. (n= 5-9) *P<0,05 vs. DMSO.

Tabela 2: Valores do teste de placa quente modificado em camundongos. (n= 7-9) *P<0,05 vs. DMSO.

Amostras	Variação da latência (s)			
	15 min	60 min	180 min	360 min
DMSO	5,6 ± 0,8	5,6 ± 0,7	6,5 ± 1,0	8,9 ± 1,3
EPM (10 mg/kg)	1,8 ± 0,5 *	1,2 ± 0,7 *	1,3 ± 0,4 *	1,2 ± 0,6 *
EPM (30 mg/kg)	0,3 ± 0,3 *	1,6 ± 0,5 *	0,3 ± 0,2 *	1,3 ± 0,4 *
FR. Hexânica (10 mg/kg)	3,4 ± 0,7	2,0 ± 0,5 *	0,6 ± 0,4 *	0,8 ± 0,4 *
FR. Diclorometância (10 mg/kg)	2,0 ± 0,6 *	3,2 ± 0,9	3,0 ± 0,9 *	2,0 ± 0,3 *
Indometacina (4 mg/kg)	1,7 ± 0,6 *	2,0 ± 0,8 *	0,7 ± 0,3 *	0,1 ± 0,1 *

Esse teste, da placa quente modificado, é uma variante do método clássico da placa quente, cujos objetivos são detectar a nocicepção inflamatória e a hiperalgesia periférica (LAVICH et al., 2005).

As reações do reflexo de latência à estimulação das patas não-inflamadas, utilizado no método clássico da placa quente, são adequados para medir os efeitos antinociceptivos de analgésicos opioides, mas são completamente insensíveis aos analgésicos não esteroides (LAVICH et al., 2005). Mas, com a modificação do ensaio, no qual uma pata traseira é submetida à inflamação e é colocada na superfície da placa quente, Menendez et al. (2002) demonstraram a utilidade desse método para detecção de hiperalgesia periférica.

Sabe-se que a carragenina é capaz de induzir a produção de um exsudato rico em proteínas que contém grande número de neutrófilos que são ativados por citocinas, como IL-8, e liberam uma variedade de produtos que ativam a cascata inflamatória (LO et al., 1982). Além disso, a carragenina apresenta três fases distintas envolvidas na resposta inflamatória aguda. A primeira relaciona-se à liberação de histamina e serotonina, a segunda fase envolve a liberação de bradicinina enquanto as PG estão envolvidas na última fase (DI ROSA et al., 1971).

Então, a diminuição do tempo de reação causada pelo extrato hidroalcoólico de *P. mucronata* pode estar diretamente relacionado com a diminuição da produção desse mediador pró-inflamatório. Esse é exatamente o mecanismo de ação analgésico descrito para os anti-inflamatórios não esteroidais, como a indometacina, que inibem a enzima cicloxigenase, e conseqüentemente, a produção de PG (FARSAM et al., 2000). Dessa forma, as prostaglandinas não sensibilizam os nociceptores presentes nas fibras de condução de dor C e A δ .

Além disso, não se deve esquecer que com a provocação de calor há a estimulação de termorreceptores, havendo assim uma dupla ativação, de termorreceptores e de nociceptores, o que pode causar o reflexo de retirada mais rápido do animal, do que só havendo um estímulo mecânico (LE BARS et al., 2001).

Baseado no fato que os camundongos reagiram à estimulação térmica com uma diminuição aguda da latência da resposta de retirada da pata injetada com carragenina em relação à pata injetada com o veículo, LAVICH et al. (2005) sugerem que o teste da placa quente modificado seja um método

simples, rápido e sensível, adequado para detecção de hiperlagesia periférica em camundongos.

Outra informação muito importante é que de acordo com a polaridade do solvente há uma maior possibilidade de se encontrar certas classes de compostos químicos em maiores quantidades. Por exemplo, o solvente hexano é capaz de extrair furanocumarinas, hidrocarbonetos, lipídeos, óleos essenciais e pigmentos. Já o solvente diclorometano é capaz de extrair alcaloides sob a forma básica, antraquinonas livres, heterosídeos cardiotônicos, óleos essenciais, óleos fixos e ceras. E em soluções hidroalcoólicas há um favorecimento da extração de saponinas e taninos (CUNHA, 2010).

Nos trabalhos desenvolvidos por SHOJAI et al. (2015), ficou comprovado, através do teste da formalina em ratos, que o extrato hidroalcoólico da vagem de *Astragalus hamosus* possui efeito anti-inflamatório dose dependente. Os pesquisadores atribuíram essa atividade há presença de saponinas e flavonoides que foram isolados dessa planta.

TOSUN et al. (2009) relataram, através do teste de edema de pata induzido por carragenina e pelo teste de contorção induzida por p-benzoquinona in vivo, as atividades analgésicas e anti-inflamatórias da fração hexânica e de cumarinas isoladas das folhas de *Seseli gummiferum sub sp. corymbosum* (Apiaceae), o que indica que as atividades encontradas correlacionam-se com o composto químico isolado.

Diversos estudos fitoquímicos conseguiram identificar alcalóides e óleos essenciais na planta *Zanthoxylum chiloperone* (FERREIRA et al., 2002; THOUVENEL et al., 2003; SORIANO-AGATÓN et al., 2005). Baseado nisso, VILLALBA et al. (2007) avaliaram as atividade antinociceptiva e anti-inflamatórias do fração hexânica das folhas dessa espécie no teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste da formalina e edema de pata induzido por carragenina em camundongos e ratos. Com resultados significativos em ambos os teste, os autores correlacionaram as atividades antinociceptiva e anti-inflamatórias a presença de alcaloides e óleos essenciais já descritos na planta.

Outro estudo de ALAJMI et al. (2014) investigou se a fração diclorometânica das folhas de *Maytenus obscura* possuía atividade anti-inflamatória. Além disso, realizou-se a análise em HPLC para verificar quais os

componentes químicos estavam presentes na fração. A avaliação da atividade anti-inflamatória através do teste da formalina com a medição do edema de pata em ratos confirmou que a *M. obscura* foi eficaz em frente à inflamação causada pela formalina, e a análise em HPLC mostrou que a fração contém lipídeos, fenol, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos, alcaloides e quinona, que possivelmente são responsáveis pelo efeito anti-inflamatório.

Baseado nos resultados das pesquisas acima é possível observar que as plantas medicinais possuem muitos efeitos benéficos que podem ser utilizados como alternativa em determinados tratamentos. Mas ainda há a necessidade de pesquisas que comprovem cada vez mais tal benefício, além de, certamente, ser capaz de descobrir nossas espécies, talvez mais potentes, como pode ser o caso da *P. mucronata* visto que há pouquíssima informação sobre essa espécie.

Então, após visualizarmos todos os resultados, podemos perceber que o extrato hidroalcoólico e as frações diclorometânica e hexânica da *Passiflora mucronata* possuem uma atividade antinociceptiva, que foi comprovada pelo teste de contorções abdominais e pelo teste da formalina. Mas, além disso, descobrimos que esse efeito nociceptivo é de origem inflamatória, como comprovamos com o resultado significativo no teste de placa quente modificado e com a não existência de um resultado significativo no teste de placa quente clássico.

Assim, após exposição a um agente inflamatório, a *P. mucronata* é capaz de produzir um efeito analgésico, agindo de forma semelhante à indometacina, que é um AINE, ou seja, bloqueia a liberação de mediadores químicos e, conseqüentemente, a ativação dos nociceptores. E esse efeito provavelmente está relacionado a presença de algum composto químico, como alcaloides, flavonoides, saponinas, antraquinonas e outros, porém essa informação só será comprovada com o isolamento.

6. Conclusão

- O extrato hidroalcoólico, as frações hexânica e diclorometânica e o extrato do fluido supercrítico (ESF 22045) de *Passiflora mucronata* apresentaram atividade antinociceptiva no teste de contorções abdominais;
- As frações mais apolares, hexânica e diclorometânica, provavelmente possuem a(s) substância(s) responsável(is) pela atividade analgésica do extrato da *P. mucronata*;
- O extrato hidroalcoólico de *P. mucronata*, no teste de placa quente, só apresentou efeito significativo com 30 mg/kg, o que não foi observado com as frações testadas;
- A atividade antinociceptiva de *P. mucronata* provavelmente está envolvida com ação anti-inflamatória, sendo comprovada essa ação no teste de placa quente modificado;
- Os resultados deste trabalho mostraram que *P. mucronata* apresentam ação antinociceptiva e anti-inflamatória, contribuindo para guiar a identificação de novo produto bioativo de origem natural com possibilidade de desenvolvimento de novos fármacos.

7. Referências Bibliográficas

ABBAS, A.K.; KUMAR, V.; FAUSTO, N. **ROBBINS e COTRAN - Patologia: Bases Patológicas das Doenças**. 7Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, p.72.

ALAJMI, F.; ALAM, P. Anti-inflammatory activity and qualitative analysis of different extracts of *Maytenus obscura* (A. Rich.) Cuf. by high performance thin layer chromatography method. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.4, n.2, p.152-157, feb. 2014.

ALMEIDA, T.F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways: a neuroanatomical review. **Brain Research**, v.1000, n.1-2, p.40-56, mar. 2004.

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

ALMEIDA, J.R.G.S.; ARAUJO, E.C.C.; RIBEIRO, L.A.A.; LIMA, J.T.; NUNES, X.P.; LÚCIO, A.S.S.C.; ANGRA, M.F.; FILHO, J.M.B. Antinociceptive activity of ethanol extract from *Duguetia chrysocarpa* Maas (Annonaceae). **The Scientific World Journal**, v. 859210, p.1-6, jan. 2012.

ANTMAN, E.M.; BENNETT, J.S.; DAUGHERTY, A.; FURBERG, C.; ROBERTS, H.; TAUBERT, K.A. Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement. **American Heart Association**, v.115, n.12, p.1634-1642, feb. 2007.

AKIRA, S.; HIRANO, T.; TAGA, T.; KISHIMOTO, T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL-1 and TNF). **The Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology**, v.4, p.2860-2867, aug. 1990.

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

BATLOUNI, M. AINES: efeitos cardiovasculares e renais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.94, n.4, p.556-563, abr. 2010.

BECKER, E.L. Chemotactic factors of inflammation. **Trends Pharmacological Sciences**, v.4, n.5, p.223-225, may 1983.

BESSON, J.M. The neurobiology of pain. **The Lancet**, v.353, n.9164, p.1610–1615, may 1999.

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

BODNAR, R.J. **Endogenous opiates and behavior: 2007**. *Peptides*, 2008, v.29, p.2292–2375.

BOKSTALLER, S.; SCHIMIDT, P.C. A comparative study on the content of passionflower flavonoids and sesquiterpenes from valerian root extracts in pharmaceutical preparations by HPLC. **Pharmazie**, v.52, n.7, p.552-557, 1997.

BONICA, J.J.; YAKSH, T.; LIEBESKIND, J.C. Biochemistry and modulation of nociception and pain. In BONICA, J.J. (Ed). **The management of pain**. Filadélfia: Lea & Febiger, 1990, v.1, p.95-121.

BORRELLI, F.; PINTO, L.; IZZO, A.A.; MASCOLO, N.; CAPASSO, F.; MERCATI, V.; TOJA, E.; AUTORE, G. **Anti-inflammatory activity of *Passiflora incarnata* L. in rats**. *Phytoterapy Research*, v.10, n.1, p.104-106, 1996.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 79, de 4 de novembro de 2008. **Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e Outras sob Controle Especial**, da Portaria SVS/MS nº.344, de 12 de maio de 1998.

CAILLIET, R. **Dor: mecanismo e tratamento**. Porto Alegre: Artmed, 1999.

CALIXTO, J.B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A.R.; FILHO, C.V.; YUNES, R.A. Naturally occurring antinociceptive substances from plants. **Phytotherapy Research**, v.14, n.6, p.401–418, sept. 2000.

CAVALCANTE, P.B. **Frutos comestíveis da Amazônia**. 2Ed. Belém: Hub Faria Neto, 1976, p.154.

CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.T.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J.; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L. COX-3, cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.99, n.21, p. 13926 –13931, oct. 2002.

CHAPMAN, C.R.; GAVRIN, J. Suffering: the contributions of persistent pain. **The Lancet**, v.353, n. 9171, p.2233-2237, june 1999.

CHENG, H.F.; HARRIS, R.C. Renal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and selective cyclooxygenase-2 inhibitors. **Current Pharmaceutical Design**, v.11, n.14, p. 1795-1804, 2005.

CLARK, M.R. Pharmacological treatments for chronic non-malignant pain. **International Review of Psychiatry**, v.12, p.148-156, 2000.

CLAYTON, B.D.; STOCK, Y.N. **Farmacologia na prática de enfermagem**. 13Ed, 2006, p.311-334.

COLLIER, H.O.J.; DINNEEN, J.C.; JOHNSON, C.A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology Chemotherapy**, v.32, p.295-310, feb. 1968.

COLOMBO, B.; ANNOVAZZI, P. O.; COMI, G. Medications for neuropathic pain: current trends. **Neurological Science**, v.27, n.2, p.183-9, may 2006.

CRYER, B.; FELDMAN, M. Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine**, v.104, n.5, p.413-421, may 1998.

CUNHA, A.P.; ROQUE, O.R. Obtenção de moléculas com atividade farmacológica a partir de material vegetal e sua transformação em medicamento. In: CUNHA, A.P. **Farmacognosia e Fitoquímica**. 3Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010, p.113.

CYSNEROS, R.M. **Mecanismo de ação hipotensora do extrato aquoso e frações purificadas de *Cescropia glazioui sneth***. 1996. Tese (Doutorado) - Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

DASSOLER, M.; SCHWANZ, M.; BUSSETO, F.; MOREIRA, E.A.; GUTIERREZ, L. Perfil fitoquímico e ensaio farmacológico de *Averrhoa carambola* L. (*Oxalidaceae*). **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v.2, p.4-8, jul. 2004.

DHAWAN, B.N.; CESSSELIN, F.; RAGHUBIR, R.; REISINE, T.; BRADLEY, P.B.; PORTOGHESE, P.S.; HAMON, M. Classification of opioid receptors. **Pharmacological Reviews**, v.48, p.567-592, dec. 1996.

DIAS, S. **A versão biológica da dor**. 2007. Disponível em: <<http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=24&id=274&tipo=0>> Acesso em 20/08/2014.

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology**, v.104, n.1, p.15–29, may 1971.

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

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

EMERY, P. Cyclooxygenase-2: A major therapeutic advance? **The American Journal of Medicine**, v.110, n.1A, p.42s-45s, jan. 2001.

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

FARSAM, H.; AMANLOU, M.; DEHPOUR, A.R.; JAHANIANI, F. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, n.3, p.443-447, aug. 2000.

FATTAH, C.M.R.S.; ARANEGA, A.M.; LEAL, C.R.; MARTINHO, J.; COSTA, A.R. Controle da dor pós-operatória em cirurgia bucal: revisão de literatura. **Revista de Odontologia de Araçatuba**, v.26, n.2, p.56-62, 2005.

FERREIRA, M.E.; ROJAS DE ARIAS, A.; ORTIZ, S.T.; INCHAUSTI, A.; NAKAYAMA, H.; THOUVEL, C.; HOCQUEMILLER, R.; FOURNET, A. Leishmanicidal activity of two canthin-6-one alkaloids, two major constituents of *Zanthoxylum chiloperonevar. angustifolium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.80, n.2-3, p.199-202, may 2002.

FIELDS, H.L. Can opiates relieve neuropathic pain? **Pain**, v.35, n.3, p.365–367, dec. 1988.

FIRMO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.C.L.; NETO, M.S.; OLEA, R.S.G. CONTEXTO HISTÓRICO, USO POPULAR E CONCEPÇÃO CIENTÍFICA SOBRE PLANTAS MEDICINAIS. **Caderno de Pesquisa**, v. 18, p.1-6, dez. 2011.

FITZGERALD, G.A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitor of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**, v.345, n.6, p.433-442, aug. 2001.

FLOWER, R.J.; VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthetase in brain explains the anti-pyretic activity of paracetamol (4-acetamidophenol). **Nature**, n.240, v.5381, p.410-13, dec. 1972.

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

FREITAS, P.C.D. **Estudo farmacognóstico comparativo de espécies brasileiras do gênero *Passiflora L.*** São Paulo, 133p. 1985. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

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

GEIGER, H.; MARKHAM, K.R. The C-glycosylflavone pattern of *Passiflora incarnata L.* **Zeitschrift-fur-Naturforschung**, v.41, n.9/10, p.949-950, apr. 1986.

GOLDSTEIN, A.; NAIDU, A. Multiple opioid receptors: ligand selectivity profiles and binding signatures. **Molecular Pharmacology**, v.36, n.2, p.265-72, aug. 1989.

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

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

GUTSTEIN, H.B; AKIL, H. Analgésicos Opioides. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. **Goodman & Gilman - As bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10Ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003, p. 427-482.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. O Sistema Nervoso: Sensações Somáticas: Organização geral, as sensações de tato e de posição corporal. – In: **Tratado de Fisiologia Médica**, 12Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, p. 614.

HARBORNE, J.B.; BAXTER, H. **Phytochemical dictionary: a handbook of bioactive compounds from plantas**. London: Taylor e Francis, 1995.

HELLEBREKERS, L. J. **Dor em Animais**. São Paulo: Manole, 2002, p.69-79.

HORTON, R. Vioxx, the implosion of Merck, and aftershocks at the FDA. **The Lancet**, v.364, n.9450, p.1995–1996, dec. 2004.

HOWARD, P.A.; DELAFONTAINE, P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. **Journal of the American College of Cardiology**, v.43, n.4, p.519-525, feb. 2004.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**, v.14, n.1, p.69-76, june 1985.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, n.1, p.103-114, july 1987.

JEFFE, J.H.; MARTIN, W.R. Opioid Analgesics and antagonists. In: HARDMAN, J.G.; GILMAN, G.; LIMBIRD, L.E. **Goodman & Gilman`s - The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9Ed. New York: The Mcgraw Hill, 1996, p.485-521.

JI, R.R.; WOOLF, C.J. Neuronal plasticity and signal transduction in nociceptive neurons: implications for the initiation and maintenance of pathological pain. **Neurobiology of Disease**, v.8, n.1, p.1-10, feb. 2001.

JULIUS, D.; BASBAUM, A.I. Molecular mechanisms of nociception. **Nature**, v.413, n.6852, p.203-210, sept. 2001.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. **Principles of Neural Science**, 4Ed, McGRAW-HILL, 2000.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 10Ed. Porto Alegre: Artemed McGraw-Hill, 2010, p.444 e p.519.

KEARNEY, P.M.; BAIGENT, C.; GODWIN, J.; HALL, H.; EMBERSON, J.R.; PATRONO, C. Do selective cyclo-oxygenase-2 inhibitors and traditional non-

steroidal anti-inflammatory drugs increase the risk of atherothrombosis? Meta-analysis of randomised trials. **British Medical Journal**, v.332, n.7553, p.1302-1208, june 2006.

KIM, K.; BRAR, P.; JAKUBOWSKI, J.; KALTMAN, S.; LOPEZ, E. The use of corticosteroids and nonsteroidal anti-inflammatory medication for the management of pain and inflammation after third molar surgery: a review of the literature. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v.107, n.5, p.630-640, 2009.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE DEBEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Federation Proceedings**, v.18, p. 412-418, 1959.

KRISHNAN, K.; MATHEW, L.E.; VIJAYALAKSHMI, N.R.; HELEN, A. Anti-inflammatory potential of β -amyrin, a triterpenoid isolated from *Costusigneus*. **Inflammopharmacology**, v.22, n.6, p.373-85, dec. 2014.

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

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

LAVICH, T.R.; CORDEIRO, R.S.B.; Silva, P.M.R.; MARTINS, M.A. A novel hot-plate test sensitive to hyperalgesic stimuli and non-opioid analgesics. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, n.3, p.445-451, mar. 2005.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN S.W. **Animal Models of Nociception**. *Pharmacological Reviews*, v.53, p.597–652, dec. 2001.

LEMONS, C.O.T.; GARCIA, V.A.S.; GONÇALVES, R.M.; LEAL, I.C.R.; SIQUEIRA, V.L.D.; FILHO, L.C.; CABRAL, V.F. Supercritical extraction of neolignan from *Piper regnelli var pallescens*. **Journal of Supercritical Fluids**, v.71, p.64-70, 2012.

LO, T.N.; ALMEIDA, A.P.; BEAVEN, M.A. Dextran and carrageenan evoke different inflammatory response in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapies**, v.221, p.261-267, apr. 1982.

LORD, J.A.; WATERFIELD, A.A.; HUGHES, J.; KOSTERLITZ, H.W. Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. **Nature**, v.267, n.5611, p.495-499, june 1977.

LUTOMSKI, J.; MALEK, B.; RYBACKA, L. Pharmacochemical investigation of the raw materials from *Passiflora* genus. 2. The pharmacochemical estimation of juices from the fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora edulis flavicarpa*. **Planta Médica**, v.27, n.2, p.112-121, 1975.

MANSOUR, A.; FOX, C.A.; BURKE, S.; MENG, F.; THOMPSON, R.C.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Mu, delta and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: an in situ hybridization study. **The Journal of Comparative Neurology**, v.350, n.3, p.412-438, dec. 1994.

MARTINS, R.T.; ALMEIDA, D.B.; Felipe Marques do Rego MONTEIRO, F.M.R.; KOWACS, P.A.; Ricardo RAMINA, R. Receptores opioides até o contexto atual. **Revista Dor**, São Paulo, v.13, n.1, p.75-79, jan./mar. 2012.

MAUL, A. A.; WASICHY, R.; BACCHI, E. M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v. 5, p. 185-200, 1996.

MCQUAY, H. Opioids in pain management. **The Lancet**, v.353, n.9171, p.2229-2232, june 1999.

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

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

MENENDEZ, L.; LASTRA, A.; HIDALGO, A.; BAAMONDE, A. Unilateral hot-plate test: a simple and sensitive method for detecting central and peripheral hyperalgesia in mice. **Journal of Neuroscience Methods**, v.113, p.91-97, jan. 2002.

MENGHINI, A.; MANCINI, L.A. TLC determination of flavonoid accumulation in clonal populations of *Passiflora incarnata* L. **Pharmacological Research Communications**, v.20, n.5, p.113-116, dec. 1988.

MERRER, J.; BECKER, J.A.J.; BEFORT, K.; KIEFFER, B.L. Reward Processing by the Opioid System in the Brain. **Physiological Reviews**, v.89, n.4, p.1379–1412, oct. 2009.

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

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

MEYER, R.A.; CAMPBELL, F.N.; RAJA, S.N. Peripheral neural mechanisms of nociception. In: WALL, P. e MELZACK, R. (Ed). **The Textbook of Pain**. 3Ed. New York: Churchill Livingstone, 1994, p.13–44.

MILLAN, M.J. The induction of pain: an integrative review. **Progress in Neurobiology**, v.57, n.1, p.1-164, jan. 1999.

MONTANHER, A.B.; ZUCOLOTTI, S.M.; SCHENKEL, E.P.; FRODE, T.S. Evidence of anti-inflammatory effects of *Passiflora edulis* in an inflammation model. **Journal of Ethnopharmacology**, v.109, n.2, p.281–288, jan. 2007.

MONTEIRO, E.C.A.; TRINDADE, J.M.F, DUARTE, A.L.B.P.; CHAHADE, W.H. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). **Revista Temas de Reumatologia Clínica**, São Paulo, v.9, n.2, p.53-63, maio 2008.

MOARES, M.L.L.; VILEGAS, J.H.Y.; LANÇAS, F.M. Supercritical fluid extraction of glycosylated flavonoids from *Passiflora* leaves. **Phytochemical Analysis**, v.8, n.5, p.257-260, sep. 1997.

MUIR III, W.W.; HUBBELL, J.A.E.; SKARDA, R.T.; BEDNARSKI, R.M. **Manual de anestesia veterinária**. 3Ed. Porto Alegre: Artmed, 2001, p.242-249.

NETO, O.A. Anti-inflamatórios não hormonais e coxibes. In: **Dor: Princípios e prática**. 2Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009, p.1066.

NOBRE, M.E.P.; CORREIA, A.O.; BORGES, M.B.; SAMPAIO, T.M.A.; CHAKRABORTY, S.A.; GONÇALVES, D.O.; BRITO, G.A.C.; LEAL, L.K.A.M.; FELIPE, C.F.B.; LUCETTI, D.L.; ARIBA, R.M.; VIANA, G.S.B. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid exert anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents at low doses. **Nutrition Research**, v.33, p.422-433, may 2013.

NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Biodiversidade: Aspectos Biológicos, Geográficos, Legais e Éticos. In: **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 5Ed. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS/UFSC, 2003, p. 13-28.

NOGUEIRA, R.C.; CERQUEIRA, H.F.; SOARES, M.B.P. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. **Expert Opinion Therapeutic Patents**, v.20, n.2, p.1-13, 2010.

NORTH, R.A. Opioid actions on membrane ion channels. In: **HERZ, A. Opioids Handbook of Experimental Pharmacology**. Berlin: Springer – Verlag, 1993.

OASTES, J.A.; FITZGERALD, G.A.; BRANCH, R.A.; JACKSON E.K.; KNAPP, H.R.; ROBERTS, L.J. Clinical implications of prostaglandin and thromboxane A₂ formation. **New England Journal of Medicine**, v.319, n.12, p.761-767, sept. 1998.

O'BEIRNE, J.P.; CAIRNS, S.R. Drug Points: Cholestatic hepatitis in association with celecoxib. **British Medical Journal**, v.323, p.23, july 2001.

OSSIPOV, M.H.; LAI, J.; VANDERAH, T.W.; PORRECA, F. Induction of pain facilitation by sustained opioid exposure: relationship to opioid antinociceptive tolerance. **Life Sciences**, v.73, n.6, p.783-800, june 2003.

PATRONO, C. Aspirin as an antiplatelet drug. **The New England Journal of Medicine**; v.330, n.18, p.1287-94, may 1994.

PETERSEN-FELIX, S.; CURATOLO, M. Neuroplasticity--an important factor in acute and chronic pain. **Swiss Medical Weekly**, v.1, n.132, p.273-8. june, 2002.

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

PIPER, P. Leukotrienes. **Trends Pharmacological Sciences**, v.4, n.2, p.75-77, feb. 1983.

PRABHAKAR, M.C.; BANO, H.; KUMAR, I.; SHAMSI, M.A.; KHAN, M.S. Pharmacological investigations on vitexin. **Planta Medica**, v.43, n.4, p.396-403, dec. 1981.

QIMIN, L.; HEUVEL, V.D.; DELORENZO, O.; CORTHOUT, J.; PIETERS, L.A.C.; VLIETINCK, A.J.; CLAEYS, M. Mass spectral characterization of C-glycosidic flavonoids isolated from a medicinal plant (*Passiflora incarnate*). **Journal of Chromatography**, v.562, n.1/2, p.435-446, jan. 1991.

RAFF, H.; LEVITZKY, M. Sistemas Sensoriais Gerais: Tato, Dor e Temperatura. In: **Fisiologia Médica: Uma abordagem integrada**. 1Ed. Porto Alegre: Artemed McGraw-Hill, 2012, p.117.

RAMAIYA, S.D.; BUJANG, J.S.; ZACARIA, M.H. Assessment of total phenolic, antioxidant and antibacterial activities of *Passiflora* species. **The Scientific World Journal**, v.2014, n.167309, p.1-10, jan. 2014.

RANG, H.P.; BEVAN, S.; DRAY, A. Nociceptive peripheral neurons: cellular properties. In: **Textbook of Pain**. 3Ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994, v.3, p.57-78.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. Fármacos analgésicos. In: **Farmacologia**. 6Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2008. p.588-607.

REHWALD, A.; STICHER, O.; MEIER, B. Trace analysis of Harman alkaloids in *Passiflora incarnate* by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Phytochemical Analysis**, v.6, n.2, p.96-100, mar. 1995.

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

ROCHA, A.P.C.; KRAYCHETE D.C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L.R.; BARROS G.A.M.; GARCIA, G.B.S.; SAKATA, R.K. Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 2007, v.57, n.1, p.99-105.

RODRÍGUEZ, S.C.; OLGUÍN, A.M.; MIRALLES, C.P.; VILADRICH, P.F. Characteristics of meningitis caused by Ibuprofen: report of 2 cases with recurrent episodes and review of the literature. **Medicine (Baltimore)**, n.85, v.4, p.214-20, july 2006.

ROSTOM, A.; GOLDKIND, L.; LAINE, L. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hepatic toxicity: a systematic review of randomized controlled trials in arthritis patients. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v.3, n.5, p.489-498, may 2005.

RYGH, L.J.; HOLE, K.; TJOLSEN, A. Molecular Mechanisms in Acute and Chronic Pain States. **Tidsskrift for den Norske Laegeforening**, v.125, n.17, p.2374-2377, sept. 2005.

SABINA, E.P.; CHANDAL, S.; RASOOL, M.K. Inhibition of monosodium urate crystal-induced inflammation by withaferin A. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**; v.11, n.4, p.46-55, dec. 2008.

SACCO, J.C. Passifloraceae. In: **Flora Ilustrada Catarinense**, Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1980.

SAITO, V.M.; WOTJAK, C.T.; MOREIRA, F.A. Exploração farmacológica do sistema endocanabinoide: novas perspectivas para o tratamento de transtornos de ansiedade e depressão? **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v.32, p.1-8, maio 2010.

SASIKALA, V.; SARAVANAN, S.; PARIMELAZHAGAN, T. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Passiflora foetida* L. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n.6, p.600-603, aug. 2011.

SCHNITZER, T.J. Cyclooxygenase-2 specific inhibitors - Are they safe? **The American Journal of Medicine**, v.110, n.1A, p.46s-49s, jan. 2001.

SILVA, B.T.F.; NUNES, S.F.L.C.; FREIRE, S.M.F. Efeito anti-inflamatório, analgésico e antipirético do extrato etanólico de folhas de *Passiflora edulis* var. *flavicarpa* (maracujá amarelo). **Caderno de Pesquisa**, v.12, n.1/2, p.28-37, jan./dez. 2001.

SHOJABII, A.; MOTAGHINEJAD, M.; NOROUZI, S.; MOTEVALIAN, M. Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activity of the Extract and Fractions of *Astragalus hamosus* in Animal Models. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.14, n.1, p.263-269, dez. 2015.

SHU, Y.Z. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v.61, n.8, p.1053-1071, aug. 1998.

SORIANO-AAGATÓN, F.; LAGOUTTE, D.; POUPON, E.; ROBLOT, F.; FOURNET, A.; GANTIER, J.C.; HOCQUEMILLER, R. Extraction, hemisynthesis and synthesis of canthin-6-one analogues. Evaluation of their antifungal activities. **Journal of Natural Products** v.68, n.11, p.1581-1587, nov. 2005.

STEIN, C., CLARK, J.D., OH, U., VASKO, M.R., WILCOX, G.L., OVERLAND, A.C., VANDERAH, T.W., SPENCER, R.H. Peripheral mechanisms of pain and analgesia. **Brain research reviews**, v.60, n.1, p.90-113, apr. 2009.

STEIN, C.; HASSAN, A.H.; LEHRBERGER, K.; GIEFING, J.; YASSOURIDIS, A. Local analgesic effect of endogenous opioid peptides. **The Lancet**, v.342, n.8867, p.321-324, aug. 1993.

TEIXEIRA, M.J.; CORREA, C.F.; PIMENTA, C.A.M. **Dor: conceitos gerais**. São Paulo: Limary, 1994, p.72.

THOUVENEL, C.; GANTIER, J.C.; DURET, P.; FOURNEAU, C.; HOCQUEMILLER, R.; FERREIRA, M.E.; ROJAS DE ARIAS, A.; FOUENET, A. Antifungal compounds from *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. **Phytotherapy Research**, v.17, n.6, p.678-680, june 2003.

TJOLSEN, A.; BERGE, O.G.; HUSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v.51, n.1, p.5-17, oct. 1992.

TOSUN, A.; AKKOL, E.K.; YESILADA, E. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of coumarins from *Seseli gummiferum* subsp. *corymbosum* (*Apiaceae*). Zeitschrift fur Naturforschung, **Journal of Biosciences**, v.64, n.1-2, p.56-62, jan-feb. 2009.

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

VACHER, J.; DUCHENE-MARULLAZ, P.; BARBOT, P. A propos de quelques produits usuels - comparaison de deux méthodes d'étude des analgésiques. **Medicine Experimentation**, v.11, p.51-58, 1964.

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

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**, v.231, n.1, p.232-235, june 1971.

VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine**, v.104, n.3A, p.2S-8S, mar. 1998.

VILLALBA, M.A.; CARMO, M.I.; LEITE, M.N.; SOUSA, O.V. Atividades farmacológicas dos extratos de *Zanthoxylum chiloperone* (Rutaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, n.2, p.236-241, abr./jun. 2007.

WAY, W.L.; FIELDS, H.L.; SCHUMACHER, M.A. Analgésicos e Antagonistas Opioides. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia**. 8Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 446-462.

WHELTON, A. Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications. **American Journal of Medicine**, v.106, n.5B, p.13S-24S, may 1999.

WHELTON, A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: effects on kidney function. In: GREENBERG, A. **Primer on kidney diseases** (Ed.). San Diego: Academic Press, 1994, p.163-167.

WOOLFE, G.; MAC DONALD, A.D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.80, p.300-307, mar. 1944.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Traitement de la douleur cancéreuse**. Geneva, Switz: World Health Organization; 1986.

ZÖLLNER, C.; STEIN, C. **Opioids**. Handbook of Experimental Pharmacology. 2007, v.177, p.31-63.

ZONEAMENTO AGROECOLÓGICO DA RESTINGA. **Contribuição ao plano diretor de ocupação, estudos do Meio Biótico**. Quissamã: Secretaria Municipal de Agricultura e Meio Ambiente, 1994, p.234.