



UNIVALI
UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

ARNALDO WILLAIN FILHO

**POTENCIAL ANALGÉSICO DE FLAVONÓIDES:
ESTUDO DO MECANISMO DE AÇÃO DA QUERCETINA**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE MESTRADO ACADÊMICO
EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SUBSTÂNCIAS SINTÉTICAS BIOATIVAS**

ARNALDO WILLAIN FILHO

**POTENCIAL ANALGÉSICO DE FLAVONÓIDES: ESTUDO DO
MECANISMO DE AÇÃO DA QUERCETINA**

Dissertação submetida à Universidade do Vale do Itajaí como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Márcia Maria de Souza
Co-orientador: Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho

Itajaí, outubro de 2005

POTENCIAL ANALGÉSICO DE FLAVONÓIDES. ESTUDO DO MECANISMO DE AÇÃO DA QUERCETINA

Arnaldo Willain Filho

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Produtos Naturais e Análogos Sintéticos Bioativos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Vale do Itajaí.

Professora Márcia Maria de Souza, Doutora
Orientadora

Professora Tania Mari Bellé Bresolin, Doutora
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Apresentada perante a Banca Examinadora composta pelos professores:

Doutora Márcia Maria de Souza (UNIVALI) - Presidente

Doutor Valdir Cechinel Filho (UNIVALI) – Co-Orientador

Doutora Alcíbia Helena de Azevedo Maia (UFSC) - Membro

Doutora Ângela Malheiros (UNIVALI) - Membro

Itajaí(SC), 20 de outubro de 2005

DEDICATÓRIA

Dedico esta Dissertação às minhas irmãs e sobrinhos (Suzana e Roberta, João e Maria), em especial aos meus pais Arnaldo e Recilda, por serem meu alicerce em mais essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grato a Deus por me dar uma nova oportunidade, saúde e força para cumprir o meu objetivo.

Quero agradecer imensamente ao Prof. Adair, que desde 1995 me forneceu todo incentivo e apoio, me auxiliando nos caminhos da sabedoria;

Aos professores, funcionários e alunos do Curso de Farmácia (Ednéia, Clóvis, Niero, Roberto, Ângela, Marcos (Abílio) e etc) meu eterno reconhecimento pelo apoio, sugestões e carinho, os quais muito colaboraram para que eu alcançasse o tão sonhado objetivo;

A Coordenação e funcionários do Mestrado, em especial à Rosélia;

A todos da Coordenação do Curso de Nutrição, Prof^a Márcia, Janete demais professores e alunos, pela compreensão nas minhas ausências;

Ao grande amigo Dalton, por me ajudar, e em muitas horas ser meu ombro;

Também sou imensamente grato a essa grande pessoa e amigo, Leonardo que sempre estava disposto a me ajudar nos trabalhos experimentais;

O prof. Cechinel que através de sua conduta nos ensina que temos que ser bons cientistas;

Ainda tive o privilégio e a honra de ser orientado pela Prof^a. Dr^a. Márcia Maria de Souza, que é essa pessoa admirável, por em toda hora se preocupar com minha vida, tanto nos estudos como no âmbito pessoal, por me ensinar que a ciência faz parte de nossas vidas e podemos viver melhor com ela, por compreender todos os meus tropeços durante essa jornada;

E agora, ao final de minha jornada Deus se encarregou de iluminar meu caminho com a presença da princesa Érica em minha vida

"Eu não caibo, mais nas roupas em que eu cabia, eu não encho mais a casa de alegria, os anos se passaram enquanto eu dormia."

"Devia ter amado mais, ter chorado mais, devia ter arriscado mais, errado mais e até vivido mais, devia ter feito o que eu queria fazer."

(Titãs)

POTENCIAL ANALGÉSICO DE FLAVONÓIDES. ESTUDO DO MECANISMO DE AÇÃO DA QUERCETINA

Arnaldo Willain Filho

Outubro/2005

Orientador: Márcia Maria de Souza, Dra.

Área de Concentração: Farmacologia

Número de páginas: 87

Resultados anteriores obtidos em nossos laboratórios demonstraram que a quercetina, um flavonóide presente em muitas plantas medicinais da flora catarinense, exibiu potente efeito antinociceptivo quando testado em vários modelos animais de dor. O presente estudo teve como objetivo investigar o mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva deste flavonóide. Foram utilizados camundongos machos Swiss Webster (25-30g, n= 6-8), submetidos ao modelo de dor induzido pelo ácido acético (AA/0.6%). Neste modelo foram estudados os sistemas: adrenérgico, oxidonitrérgico, dopaminérgico, opióide, GABAérgico, serotoninérgico, colinérgico e sistema de glicocorticóides endógenos através da remoção bilateral das adrenais. Também foram utilizados os modelos de dor induzida pelo glutamato e capsaicina com objetivo de investigar a influência dos sistemas glutamatérgico e taquicinérgico respectivamente, na propriedade antinociceptiva do composto. Um grupo de animais também foi submetido ao modelo da placa quente com o objetivo de complementação da investigação do sistema opióide. Os animais foram pré-tratados com antagonistas adrenérgicos α 1/prazosin e α 2/Yoimbina (0.15mg/Kg), opióide/naloxona (1.0mg/Kg), dopaminérgico/haloperidol (3.0mg/Kg), oxidonitrérgico L-arginina (0.75mg/Kg) serotoninérgico/ PCPA (100mg/kg)/metisergida (5.0mg/kg)/cetanserina (1.0mg/kg), colinérgico/atropina (1.0mg/kg), GABAérgico/bicuculina (0.7 mg/kg) ou faclofeno (3.0 mg/kg) 15 min antes da quercetina (10mg/kg) e/ou controles positivos salina e agonistas dos sistemas avaliados, 30 min antes do AA. Nos modelos da capsaicina e glutamato os animais foram pré tratados com a quercetina 30 minutos antes da indução dolorosa com a capsaicina (1.6 μ /pata) e glutamato (30 μ mol/pata). Os resultados demonstraram que o efeito antinociceptivo da quercetina perdura por até 4 horas após sua aplicação. Tal efeito antinociceptivo da quercetina não foi revertido pelos tratamentos de: naloxona, L-arginina, prazosin e atropina, quando comparado aos seus respectivos controles: morfina, L-NOARG, fenilefrina e acetilcolina. Entretanto, houve reversão da antinocicepção induzida pela quercetina pelo tratamento de: yoimbina, PCPA, metisergida, cetanserina, haloperidol, faclofeno e bicuculina. A quercetina também foi efetiva no modelo de capsaicina e glutamato quando comparados com os respectivos controles e, animais que sofreram adrenalectomia tiveram a inibição do efeito antinociceptivo do composto. Até o momento, os dados obtidos ampliam achados anteriores sobre o efeito antinociceptivo da quercetina e sugerem que o mesmo possa estar sendo mediado pelos sistemas taquicinérgico, glutamatérgico, adrenérgico, serotoninérgico, glicocorticóides e dopaminérgico, não sofrendo a influência dos sistemas opióide, oxidonitrérgico e colinérgico. Os resultados sugerem que a quercetina pode ter uma aplicabilidade terapêutica em vários processos dolorosos.

Palavras-chaves: Quercetina, Flavonoides, mecanismo de ação.

ANALGESIC POTENTIAL OF FLAVONOIDS. A STUDY ON THE MECHANISM OF ACTION OF QUERCETIN

Arnaldo Willain Filho

October/2005

Advisor: Marcia Maria de Souza, Dr.
Area of Concentration: Pharmacology
Number of Pages: 87

Previous results obtained from our laboratories have demonstrated that quercetin, a common flavonoid present in many medicinal plants, exhibits a potent antinociceptive effect when evaluated in several models of pain in animals. The aim of the present study is to analyze the mechanism of antinociceptive action of quercetin. Male Swiss Webster (25-30g, n=6-8), mice were used, which were submitted to the Acetic Acid (AA/0,6%) pain induced model. In this model, the following systems were studied: adrenergic, oxidonitregic, dopaminergic, opioid, serotonergic, cholinergic, and the system of endogenous glucocorticoids, through the bilateral removal of the adrenals. Capsaicin and glutamate induced pain models were also used, in order to investigate the influence of the glutamatergic and tachysynergic systems, respectively, on the antinociceptive property of the compound. A group of animals was also submitted to the hot plate model, to complement the investigation of the opioid system. The animals were pre-treated with the adrenergic antagonists α 1/prazosin and α 1/yohimbine (0.15mg/Kg), opioid/naloxone (1.0mg/Kg), dopaminergic/haloperidol (3.0mg/Kg), oxidonitregic L-arginine (0.75mg/Kg), serotonergic / PCPA (100mg/kg), methysergide (5.0mg/kg), ketanserine (1.0mg/kg) cholinergic/atropine (1.0mg/kg), GABAergic/bicuculline (0.7mg/kg) or phaclofen (3.0mg/kg), 15 mins prior to the injection of quercetin (10 mg/kg and/or positive controls saline and agonists of the appraised systems), and 30 min prior to AA. In the capsaicin and glutamate models, the animals were pre-treated with quercetin, 30 minutes before painful induction with capsaicin (1.6 μ /paw) and glutamate (30 μ mol/paw). The results show that the antinociceptive effect of quercetin lasts for 4 hours from its application, and that this effect is not reverted by treatment with naloxone, L-arginine, prazosin and atropine, when compared with their respective controls: morphine, L-NOARG, phenylphryne and acetylcholine. However, it is reverted by pre-treatment with: yohimbine, PCPA, methysergide, ketanserine, haloperidol, phaclofen and bicuculline. Quercetin was also effective in the capsaicin and glutamate model when compared with the respective controls, and the animals submitted to adrenalectomy showed inhibition of the antinociceptive effect of the compound. The data obtained confirm previous findings on the analgesic effect of quercetin, suggesting that it could be mediated by the tachysynergic, glutaminergic, adrenergic, serotonergic, glucocorticoid and dopaminergic systems, but with no influence from the opioid, oxide nitregic and cholinergic systems. The results suggest that quercetin may have therapeutic application in the various dolorous processes.

Keywords: Analgesia, Mechanism of action, Flavonoids, Quercetin

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Estrutura molecular da Quercetina.....	19
Figura 02: Vias de transmissão do processo doloroso.....	28
Figura 03: Fluxograma do protocolo adotado para o estudo do mecanismo de ação da Quercetina	34
Figura 04: Efeito antinociceptivo da Quercetina administrada pela via intraperitoneal e via oral	39
Figura 05: Duração do efeito da Quercetina, administrada pela via i.p.	40
Figura 06: Efeito da Quercetina administrada por via i.p. (10-60 mg/kg) em relação a primeira (painel A) e segunda (painel B) fase da dor induzida pela formalina	44
Figura 07: Efeito da Quercetina (10, 30 e 60 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pela injeção intraplantar de capsaicina (1,6 µg/pata) em camundongos	46
Figura 08: Efeito da Quercetina (10, 30 e 60 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pela injeção intraplantar de glutamato (30µmol/pata) em camundongos.....	48
Figura 09: Influência do pré-tratamento de camundongos com naloxona (1 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	51
Figura 10: Efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) e Morfina (10 mg/kg, s.c.) no teste da placa quente.....	52
Figura 11: Influência do pré-tratamento de camundongos com yoimbina (0,15 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.), fenilefrina (1 mg/kg, i.p.) ou clonidina (0.1 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	54
Figura 12: Influência do pré-tratamento de camundongos com PCPA (100 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	56

Figura 13: Influência do pré-tratamento de camundongos com Metisergida (A) e Cetanserina (B) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	57
Figura 14: Influência do pré-tratamento de camundongos com haloperidol sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	60
Figura 15: Influência da adrenalectomia bilateral dos camundongos na antinocicepção causada pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	62
Figura 16: Influência do pré-tratamento de camundongos com L-arginina (600 mg/kg, i.p.) ou com D-arginina (600 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético.....	63
Figura 17: Influência do pré-tratamento de camundongos com bicuculina (0,7 mg/kg), faclofeno (3 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg), muscimol (1 mg/kg) ou baclofeno (1mg/kg) em relação a nocicepção causada pelo ácido acético	65
Figura 18: Influência do pré-tratamento de camundongos com Atropina (mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg), em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.....	66

LISTA DE TABELAS

Quadro 1: Efeito de flavonóides administrados por via i.p. sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (i.p.).....	38
Quadro 2: Comparação dos valores das DI50s e inibição máximas (Im) calculadas para a Quercetina , paracetamol e aspirina no modelo de dor induzida por ácido acético.....	40
Quadro 3: Comparação dos valores das DI50s e inibição máximas (IMs) calculadas para a Quercetina , paracetamol e aspirina no modelo de dor induzida pelo ácido acético	42

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	5-Hidroxi-Triptamina (serotonina)
ADP	Adenosina Mono-fosfato
AED	Associação para o Estudo da Dor
AINES	Antiinflamatório Não Esteroidal
AMPA	Subunidades de receptores de glutamato
AMPC	Adenosina-3'5'-monofosfato cíclico
ATCs	Antidepressivos Tricíclicos
ATP	Adenosina Tri-fosfato
CGRP	Peptídeo Liberador do Gene da Calcitonina
COX	Ciclooxigenase
COX2	Ciclooxigenase do Tipo II
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ERK	Do inglês: Estracelullar-ligand-regulated Kinase
FDA	Food Drug Administration
GABA _A	Receptor GABA do tipo A
GABA _B	Receptor GABA do tipo B
GMPc	Guanosina-3'5'-monofosfato cíclico
HPAeixo	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
HPLC	Cromatógrafo Líquido de Alto Desempenho
IL-1 β	Citocina β 1
IL- δ	Citocina δ
L-NOARG	N-Nitro-L-Arginina (inibidor da síntese de NO)
LPS	Lipopolisacarídeo
N ₁	Receptor de taquicinas
NGF	Fator de crescimento neural
NK ₂	Receptor taquicinérgico
NMDA	N-Metil-D-Aspartato
NMR	Núcleo Mediano da Rafe
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
NRG	Núcleo Reticular Gigantocelular
P38MAP quinase	Proteína Ativada por Mitógenos
PCPA	P-Clorofenilalanina
PDGF	Receptor de proteína Quinase
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PKA	Proteína Quinase A
PKC	Proteína Quinase C
PPT-A ₂	Gene da pré-taquicinina A
SNC	Sistema Nervoso Central
SP	Substância P
TGF β ₁	Receptor de superfície celular
TNF α	Fator de necrose tumoral
VIP	Peptídeo Vasoativo
VR ₁	Receptor vanilóide do tipo 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Uso de plantas na medicina popular	16
3.2 Flavonóides: aspectos gerais	17
3.3 Do composto em estudo	19
3.4 Mecanismos envolvidos na transmissão da dor	25
4 MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1 Obtenção dos flavonóides	30
4.2 Tratamentos	30
4.3 Animais.....	30
4.4 Reagentes.....	31
4.5 Ensaios farmacológicos.....	31
4.5.1 <i>Análise do mecanismo de ação antinociceptiva dos flavonóides</i>	33
4.5.2 <i>Análise estatística</i>	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 Nocicepção Induzida Injeção de Ácido Acético.....	37
5.2 Nocicepção Induzida pela Injeção Intraplantar de Formalina.....	42
5.3 Nocicepção Induzida pela Injeção de Capsaicina	45
5.4 Nocicepção Induzida pela Injeção Intraplantar de Glutamato	48
5.5 Análise do Mecanismo de Ação da Propriedade Antinociceptiva da Quercetina ...	50
6 CONCLUSÕES	68
7 REFERÊNCIAS	69

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Sabe-se que as plantas medicinais vem sendo utilizadas desde as épocas mais remotas e que, nossos ancestrais já as usavam com o propósito de amenizar algumas das muitas enfermidades que tinham, sobretudo o processo doloroso. Entretanto, relatos científicos sobre o efeito medicinal das plantas foram descritos somente a partir do século XX. Desde então, as plantas passaram a constituir a base de um arsenal terapêutico, que foi passando para segundo plano na medida em que iam surgindo os produtos sintéticos, sendo que suas origens nada mais eram que uma imitação dos princípios ativos contidos nas mesmas (CALIXTO e YUNES, 2001).

Com respeito às potencialidades de nossa flora, já se apontava nos anos 80 um entusiasmo em relação ao uso de plantas medicinais e seus extratos na assistência á saúde. Tal fato pode ser entendido pela aceitabilidade das plantas derivada da inserção cultural e atual disponibilidade desses recursos, ao contrário do que ocorre com outros medicamentos, que na sua maioria são dependentes de matéria-prima e tecnologias externas (SHENKEL et al., 1985; SIMÕES et al., 2001).

Na área farmacêutica as plantas e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância, tendo em vista a utilização das substâncias ativas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos e como fonte de matérias-primas farmacêuticas, tanto para obtenção de fármacos como para obtenção de adjuvantes (utilizados na formulação) ou, ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente à base de extratos vegetais os medicamentos fitoterápicos (SHENKEL et al., 2001; NIERO et al., 2000; NIERO et al., 2003).

Com relação ao processo doloroso, as plantas medicinais tem sido muitas vezes a única opção de tratamento para a população de baixa renda e também, é inegável a realidade de que os mais potentes e eficazes medicamentos analgésicos são derivados de plantas. Entretanto, muitos tipos de dores especialmente dores neuropáticas e/ou crônicas apresentam terapêutica de difícil utilização devido aos efeitos colaterais oriundos do tratamento. Desta forma, a pesquisa de princípios ativos isolados de plantas medicinais com propriedades analgésicas continua sendo uma constante (CALIXTO et al., 2000; CARLINI., 2003).

Neste contexto os flavonóides possuem especial importância. Os flavonóides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural (SIMÕES et al., 1986).

Alguns estudos tem atribuído aos flavonóides um amplo número de atividades farmacológicas, dentre elas, cabe destacar as propriedades diuréticas, antiespasmódicas, antiinflamatórias, antibacterianas entre outros. (VISWANATHAN et al., 1984; EMIM et al., 1994).

A quercetina, um flavonóide encontrado abundantemente no reino vegetal, tem sido objeto de estudos nessa área (SCHULTKE et al., 2003). Como os resultados obtidos nesse e em outros laboratórios, demonstraram que a quercetina possui um potente efeito antinociceptivo, quando comparado aos analgésicos utilizados terapeuticamente, a proposta do presente estudo foi a de elucidar o (s) mecanismo (s) de ação da propriedade antinociceptiva deste composto, utilizando-se vários modelos animais de dor, e avaliando a influência de vários neurotransmissores envolvidos ora na gênese, ora na modulação do processo doloroso.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial antinociceptivo de alguns flavonóides oriundos de plantas medicinais e analisar o mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva da quercetina.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos antinociceptivo de vários flavonóides isolados de plantas medicinais em estudos realizados pelo Núcleo de Investigações Químico Farmacêuticas - NIQFAR.
- Selecionar o composto mais eficaz através do modelo de dor induzida pelo ácido acético e confirmar seu efeito antinociceptivo em outros modelos de dor.
- Elucidar o mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva do composto escolhido (quercetina) através do modelo do ácido acético.
- Comparar o efeito antinociceptivo da quercetina com fármacos analgésicos utilizados na terapêutica.

REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Uso de plantas na medicina popular

De acordo com Calixto e colaboradores (2000), apesar dos grandes avanços da medicina moderna nos últimos 10 anos, os produtos naturais, principalmente os compostos derivados de plantas naturais, contribuíram decisivamente para o desenvolvimento da terapêutica moderna e tiveram, e ainda têm, papel fundamental no esclarecimento de fenômenos complexos relacionados às biológicas celulares e moleculares, importantes para as descobertas de novos fármacos (CALIXTO et. al. 1999; 2000). O mercado mundial de medicamentos é da ordem de US\$ 300 bilhões anuais, sendo que 60% desses medicamentos originam-se de síntese orgânica, especialmente da química combinatória. Os 40% restantes do arsenal terapêutico disponível na atualidade foram obtidos direta ou indiretamente de fontes naturais (cerca de 25% de plantas, 13% de microrganismos e 2% de animais) (CALIXTO et al. 1998, CALIXTO 2000).

No Brasil, 84% dos fármacos no mercado são importados e 60% dos que são processados, são consumidos por 23% da população, o que torna os remédios caseiros a base de plantas medicinais, as principais fontes de medicamentos para a maioria do povo brasileiro (ELISABETSKY, 1999). Desta forma, é inegável que a maioria da população de baixa renda recorra às plantas medicinais para o tratamento dos seus males.

Apesar de não ter uma indústria farmacêutica forte, o comércio interno de medicamentos registrado no Brasil atinge hoje a casa dos 10 bilhões de dólares sendo o sétimo mercado mundial em termos de vendas. Dentro desse contexto, as plantas medicinais e em especial o uso dos medicamentos fitoterápicos adquirem importância como agentes terapêuticos e, por isso, devem ser prioritariamente analisados segundo os métodos modernos disponíveis (LAPA et al. 1999, CALIXTO et al. 1998, Calixto, 2000).

De SMET (1997) demonstrou que dentre os 520 novos fármacos aprovados no período de 1983 a 1994 pelo Departamento de Drogas e Alimentos (FDA) dos Estados Unidos (EUA), ou entidades equiparadas em outros países, 30 destes foram obtidos diretamente a partir de produtos naturais e 173 por processo de semi-síntese

ou modeladas a partir de protótipos extraídos de produtos naturais. Somando-se a isto, Mendelsohn e Balick (1995) calcularam em 375 o número potencial de fármacos existentes ainda nas florestas tropicais, sendo que destas, 47 já teriam sido descobertas, como a vincristina, vinblastina, curare, quinina, codeína e pilocarpina (FERREIRA et al., 1998, CALIXTO., 2000). Além disso, as “drogas potenciais” representariam um valor de US\$ 449 milhões/droga/ano ou US\$ 48 por hectare. Isto seguramente seria uma das razões para que 125 das maiores empresas farmacêuticas mundiais, que não tinham qualquer projeto com plantas medicinais há cerca de 15 anos, estejam agora empenhadas em pesquisa nessa área (FERREIRA et al., 1998).

Assim, nos últimos anos ocorreu um crescente aumento no estudo de plantas preconizadas pela medicina popular. O emprego de técnicas modernas de farmacologia, bioquímica, toxicologia e de biologia molecular renovaram o interesse na procura de novos medicamentos ou de protótipos de novos fármacos a partir de produtos naturais (CALIXTO et al., 2000; CALIXTO, SHEIDT e SANTOS, 2001).

3.2 Flavonóides: Aspectos Gerais

Flavonóides são compostos polifenólicos de origem biosintética, com a mesma estrutura química, um esqueleto benzopirânico. As características estruturais os dividem em Flavonas, Flavonols, Flavononas, Dihidroflavonois, Chalconas, Antocianosídeos, Isoflavonóides e derivados Flavonóicos. Alguns autores preferem separar os derivados flavônicos em antocianosídeos e isoflavonóides e assim conservar o nome flavonóide para o resto dos grupos. Trata-se de metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal. Até o momento já foram descritas mais de 8000 moléculas pertencentes a esse grupo, entretanto anualmente novas estruturas tem sido identificadas (SETCHELL e CASSIDY, 1999).

As frutas cítricas e verduras são as principais fontes de obtenção destes compostos (HOROWITZ e GENTILI, 1997). Na maioria dos casos os flavonóides são os responsáveis pela coloração que estas estruturas apresentam. Diariamente o homem ingere cerca de 10 a 100 mg de flavonóides, dependendo dos hábitos alimentares de acordo com a região que ele habita (De WIEL, GOLDE, HART H, 2001).

Durante anos soube-se muito pouco a respeito da biodisponibilidade dos

flavonóides, devido à falta de métodos adequados que avaliassem seu conteúdo nos alimentos assim como seus metabólitos nos fluidos corporais (SHIMOL et al. 2003).

O emprego dos flavonóides na terapêutica tem levantado várias questões quanto ao seu uso, desde a sua introdução. Em 1936, Ruszniak e Szent-Gyorgi foram os primeiros a manifestar seus efeitos benéficos sobre a normalização da permeabilidade vascular alterada, assim como sua atuação sinérgica com a vitamina C. O emprego do termo flavonóide não se introduziu até 1952, Geissman e Hinreier (De WIEL, et al., 2001; BRUNETON, 2001). Desde então, lhe são atribuídos um amplo número de atividade farmacológicas que aparentemente não tem relação entre si. Dentre várias delas cabe destacar as suas propriedades diuréticas (WANG, 2000), antiespasmódicas (MUROTA, TERRAO 2003), antiinflamatórias (THEOHRIDES et al., 2001), antibacterianas (PLAPER et al., 2003), antiulcerativas (FRANCESCA e ANGELO, 2000), antivirais (CHIANG et al., 2003), antifibrótica (QI et al., 2001), estrogênicas, antioxidantes (BOADI, IYERE, ADUNYAH, 2003), antineoplásicas (LOPEZ-LAZARO, 2002) e outras (WANG, 2000; GARCIA, GONZÁLEZ e SANTA MARIA, 2002).

A adição de todas as propriedades ao conjunto dos flavonóides sem uma justificativa farmacológica de seus respectivos mecanismos de ação fez com que tais compostos caíssem em desuso. De fato, a Food and Drug Administration (FDA) nos anos 60 eliminou do mercado dos EUA mais de 200 preparados contendo flavonóides até que suas eficácias fossem reavaliadas (HARBORNE, MABRY e MABRY, 1975). Desde então, diversos pesquisadores trataram de reavaliar as suas propriedades e passaram a elucidar seus mecanismos de ação farmacológicos (SETCHELL e CASSIDY, 1999).

Posteriormente, em meados dos anos 80, ressurgiu o interesse por estas substâncias, empregando-se algumas de origem semi-sintéticas, obtidas a partir de flavonóides contidos em frutas cítricas, com pequenas modificações estruturais ou em sua forma farmacêutica para melhorar a sua biodisponibilidade. Assim, foram introduzidos na terapêutica compostos como a diosmina, hidrosmina, troxerrutina, hesperidina-metil-chalcona, etc, indicados para o tratamento de insuficiências venosas causadoras de varizes, hemorróidas e de outras patologias vasculares (WANG, 2000).

Atualmente, o melhor conhecimento de seus mecanismos de ação, assim como a delimitação de suas atividades vinculadas a compostos concretos, tem feito

dos flavonóides o centro das atenções. Também se têm atribuído à eles efeitos benéficos sobre enfermidades de elevada prevalência nos países ocidentais, como as doenças cardiovasculares, carcinomas e sintomas climatérios. Ainda assim, a falta de dados farmacológicos e de ensaios clínicos adequadamente padronizados tem levado na maioria dos casos, a considerá-los, como uma terapia de segunda ordem.

3.3 Composto Em Estudo: Quercetina

A quercetina (Fig.01) é o flavonóide mais amplamente distribuído no reino vegetal. Está presente em muitos alimentos vegetais como cebola, maçã, chá-preto, as frutas cítricas bem como em pequenas quantidades em folhas verdes e feijões. Como um proeminente flavonóide solúvel em água, a quercetina tem sido extensivamente estudada e compreensivelmente citada em muitos artigos de revisão (FORMICA e REGELSON 1995, GRAEFE, DERENDORF, VEITE 1999, DAJAS et al. 2003, OSIEK 2004).

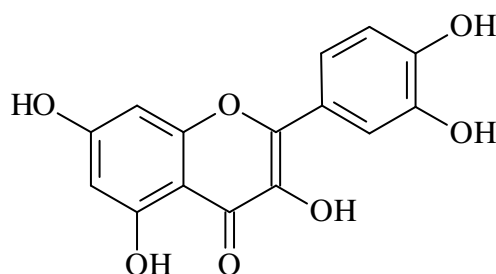


Figura 01 – Estrutura molecular da quercetina.

Por tratar-se de um composto largamente distribuído nos produtos alimentares, a estimativa calculada da ingestão da quercetina por um indivíduo, é de aproximadamente 25 mg/dia, levando a FDA a elegê-la para estudos de carcinogenicidade e toxicidade em animais, utilizando-se doses muito similares as consumidas por seres humanos (National Toxicology Program 1992). Por ser um representante do grupo dos flavonóides, as propriedades farmacológicas atribuídas ao grupo muitas vezes são encontradas no composto quando avaliado farmacologicamente.

As primeiras propriedades farmacológicas foram evidenciadas em 1979.

Rylskii e colaboradores reportaram os efeitos analgésicos de vários flavonóides dentre os quais, a quercetina figurava como o mais efetivo quando avaliado no teste da placa quente (RYLSKI et al. 1979).

Schwartz e colaboradores (1982) demonstraram que a quercetina era capaz de inibir o desenvolvimento de tumores acíticos em camundongos (Tumor de Eherlich). Hergot e colaboradores (1994), verificaram que uma dieta rica em flavonóides, dentre os quais a quercetina, kaempferol, mirecetina, apigenina e luteolina reduziram a incidência do aparecimento de tumores do trato gastrointestinal e respiratório em 738 homens em um estudo que perdurou por 5 anos. A quercetina teve um efeito bastante considerável ao reduzir o carcinoma de pulmão em humanos, através da inibição do fator de transcrição nuclear kappa B envolvidos na gênese do tumor. Contribuindo com os resultados obtidos anteriormente, Lin e colaboradores (2002) demonstraram que a quercetina inibiu o adenocarcinoma do pulmão, inibindo a expressão do gene da COX₂ por alterar a via metabólica do fator kappa B.

Com relação as leucemias, Liesveld, e colaboradores (2003) reportaram, que a quercetina e o flavopiridol foram capazes de inibir o crescimento e a viabilidade de várias linhagens de células leucêmicas isoladas com vários tipos de leucemias.

Kaneuchi e colaboradores (2003) demonstraram um efeito antitumoral da quercetina sobre o câncer endometrial os autores sugerem que ela pode suprimir a proliferação de células *Ishikawa* (linhagem de célula tumoral) através da “*down-regulation*” de EGF (Fator de crescimento epidérmico) e ciclinas como a do tipo D₁. Além disso, Tan e colaboradores (2003), demonstraram que o efeito antitumoral da quercetina pode se estender também para uma possível propriedade antiangiogênica, inibindo a formação dos novos vasos sanguíneos, responsáveis pela “alimentação” do tumor, privando-o de nutrientes.

Espécies reativas de oxigênio podem estar ativamente envolvidos na gênese de vários estados patológicos tais como a isquemia, o câncer e a diabetes. A quercetina possui efeito antioxidante, propriedade esta bastante difundida na literatura (KESSLER, UBEAUD, JUNG, 2003)

Kahraman e colaboradores (2003 a, b) estudaram o efeito gastroprotetor da quercetina através de lesões gástricas induzidas por etanol. Os autores sugeriram que o efeito gastroprotetor da quercetina poderia resultar não só de um efeito antihistamínico como também de um efeito antioxidante.

Coldiran, Sanders e Watkins (2002) já haviam verificado que a quercetina exibe tal efeito. Em um estudo bem conduzido utilizando ratos normais e diabéticos, os autores estudaram a atividade de várias enzimas (catalase, glutathione redutase, glutathione peroxidase, glutathione dismutase etc) em órgãos como o fígado, rins e coração dos animais. O tratamento com a quercetina reduziu de forma bastante significativa a atividade de tais enzimas nos ratos diabéticos.

Colaborando com os resultados já descritos, Boadi, Iyere e Adunyah (2003) compararam o efeito antiperoxidativo da quercetina e o flavonóide genisteína em estudo *in vitro*. Os autores concluíram que a quercetina foi mais efetiva que a genisteína ao diminuir os níveis de peróxido, atribuindo a esse resultado, modificações estruturais de ambos os flavonóides.

Murota e Terrao (2003), verificaram que o efeito antioxidante da quercetina pode estar envolvido nos processos de absorção e metabolismo, sendo muito importante para a regulação biológica da mesma na dieta.

Os efeitos da quercetina sobre o diabetes também são citados na literatura. Ratos diabéticos induzidos com estreptozocina tiveram os níveis glicêmicos controlados após tratamento com quercetina. Os autores sugerem que o composto produz redução da glicemia, devido a sua propriedade antioxidante que promove regeneração das ilhotas pancreáticas e conseqüentemente a liberação adequada de insulina (VESSAL, HEMMATI, VASEI, 2003). Em um outro estudo Gasparin e colaboradores (2003) verificaram os efeitos da quercetina sobre a glicogênese e glicólise, os autores verificaram que o tratamento produziu redução da fosforilação oxidativa, inibição das enzimas Na^+/K^+ -ATPase e glicose 6-fosfatase. Ainda associada ao efeito antioxidativo, recentemente Gomathi e colaboradores (2003) verificaram que a quercetina incorporada a matriz de colágeno, pode ser utilizada como adjuvante curativo para processos cicatrizantes. Os autores estudaram o processo de cicatrização em ratos submetidos ao tratamento com e sem quercetina associada a matriz de colágeno, e, verificaram que as ulcerações foram cicatrizadas mais rapidamente e de forma efetiva com a associação da quercetina.

Muitos experimentos têm sido realizados no intuito de verificar o efeito da quercetina sobre o sistema gastrointestinal, Zhang e colaboradores (2003) estudaram os possíveis mecanismos envolvidos na atividade antidiarréica da quercetina. Os efeitos do composto sobre a contratilidade foram feitos *in vitro* e *in vivo* sendo no primeiro caso, estudado o íleo isolado de cobaia e no segundo caso, o efeito sobre o

peristaltismo. O composto inibiu a contração da musculatura lisa do íleo, bem como o peristaltismo intestinal. Além disso, os autores verificaram que o composto também reduziu a permeabilidade capilar da mucosa abdominal diminuindo conseqüentemente desta forma, a diarreia.

Com relação ao efeito antiulcerativo, Zahorodnyi (2003) demonstrou que as ulcerações induzidas pelo uso de diclofenaco de sódio podem ser reduzidas pela quercetina sugerindo uma propriedade citoprotetora.

Qi e colaboradores (2001) verificaram, através de um estudo *in vitro* que a quercetina e também a genisteína exibem efeitos antifibróticos. Os autores sugerem que os dois flavonóides podem ter potencial terapêutico contra a fibrose hepática associando tal mecanismo, com a regulação do fator de crescimento plaquetário (PDGF) e ações de $TGF_{\beta 1}$.

Os estudos anteriores foram confirmados e ampliados por Lee e colaboradores (2003) quando demonstraram que a quercetina exibe *in vivo* efeito hepatoprotetor e anti-fibrogênico quando a fibrose é induzida por dimetilnitrosamina, sugerindo o uso do composto na profilaxia da fibrose hepática.

O processo inflamatório envolve uma série de mediadores que produzem diante da injúria, a dor, o rubor, o edema, o calor e a perda da função do órgão a que está sendo acometido. Compostos que inibem as várias etapas da inflamação estão sempre sendo estudados, pois os fármacos tradicionais, exibem vários efeitos adversos e/ou colaterais. A quercetina também exibe tal propriedade (antiinflamatória) e há vários trabalhos na literatura comprovando. Cho e colaboradores (2003) demonstraram que a quercetina pode exercer sua atividade antiinflamatória e imunomoduladora inibindo a expressão de citocinas e óxido nítrico (NO) por supressão da ativação de proteínas ERK e p38MAP quinases.

Em 1999, Mangeet e Grosh já haviam verificado que a produção de óxido nítrico e o fator α de necrose tumoral induzidos por LPS eram inibidos pela quercetina. No mesmo ano, Shoskes e colaboradores (1999), verificaram que homens com prostatite (categoria III) quando tratados com quercetina tiveram redução do quadro inflamatório ao final de um mês de tratamento.

Anos anteriores, Romero e colaboradores (1989) haviam confirmado o efeito antiinflamatório da quercetina, a qual inibiu a inflamação retinal e a perivasculite em modelos de inflamação ocular aguda. Mais recentemente, Rotelli, e colaboradores (2003) compararam o efeito da quercetina com outros flavonóides como a rutina e a

morina, sendo ele o composto mais efetivo em reduzir o edema induzido pela carragenina.

As propriedades farmacológicas da quercetina sobre o Sistema Nervoso Central também foram alvos de estudos, principalmente devido ao seu efeito antioxidante e neuroprotetor (DOK-GO et al., 2003).

Em seres humanos, foi verificado que a quercetina inibe a sulfatação da apomorfina R (-) em células humanas. A apomorfina é um agonista D₂ utilizado terapêuticamente para indução do vômito. Um dos problemas de seu uso é o processo de sulfatação pela qual a droga passa ao atravessar a barreira hematoencefálica causando toxicidade. Como o flavonóide inibe tal processo, os autores sugerem a complementação terapêutica da apomorfina com a adição da quercetina ao tratamento (VIETRI et al. 2003).

Em animais, muito das propriedades centrais foram validadas. A quercetina modula o receptor GABA_A de forma diferente dos benzodiazepínicos podendo ser utilizada como agente ansiolítico (GOUTMAN et al. 2003). Esses resultados confirmam os dados obtidos por Salgueiro e colaboradores (1997). Os autores testaram a quercetina no modelo do labirinto em cruz elevado e evidenciaram o efeito ansiolítico da mesma. Com relação a memória, os mesmos autores também avaliaram os efeitos da quercetina juntamente com outros flavonóides sobre o desempenho de ratos no teste de esquivas inibitórias.

A quercetina produziu melhora na performance dos animais e, esses resultados foram confirmados e ampliados por Patil e colaboradores (2003) em outros testes comportamentais de memória. Além disso, os autores ainda mostraram que a quercetina reverte o efeito amnésico induzido por LPS em camundongos, sugerindo que esse efeito seja devido a modulação da COOX₂ e da NO-sintase, ambas as enzimas envolvidas na gênese da doença de Alzheimer. Desta forma, o uso da quercetina poderia ser efetivo para a profilaxia da doença de Alzheimer. Ainda nesse aspecto, Ono e colaboradores (2003), verificaram que vários polifenóis (dentre os quais a quercetina) inibe a formação e deposição de proteínas β-amilóides em culturas de células hipocâmpais.

Com relação ao mal de Parkinson, o tratamento da doença com L-dopa e Carbidopa promovem no paciente uma série de efeitos colaterais dentre os quais destaca-se a catalepsia. Recentemente, Singh e colaboradores (2003) demonstraram que a quercetina exibe a propriedade anticatatônica em animais, e,

sugerem que a terapia com quercetina, carbidopa e L-dopa deveria ser estudada para o tratamento da doença.

Naidu e colaboradores (2003), verificaram que o composto atenuou a discinesia tardia de ratos submetidos ao tratamento crônico com haloperidol sugerindo que o co-tratamento com quercetina poderia prevenir esse efeito colateral, que aparece com o tratamento da esquizofrenia.

Potapovich e Kostyuk (2003), também descrevem o efeito citoprotetor central da quercetina em modelos de isquemia cerebral e esses resultados são confirmados por Ha et al. (2003), quando mostram que a neurotoxicidade induzida por glutamato é atenuada pelo composto.

A quercetina também exibe propriedades centrais inibindo a resposta febril de ratos com hipertermia induzida por LPS (LUK'ANCHUK et al., 1993) e esses resultados são confirmados por Ha e colaboradores 2003, quando mostram que a neurotoxicidade induzida é atenuada pelo composto.

Quercetina e dor. Com relação ao processo doloroso, as propriedades analgésicas do composto Rylski et. al. (1979) descreveram os efeitos antinociceptivo da quercetina quando avaliada no modelo da placa quente. Posteriormente, Picp, Cheave e Pringent (1991) relataram os efeitos do composto no modelo do ácido acético, especulando inclusive um mecanismo de ação para o composto. Trabalhos posteriores surgiram com o composto, sempre evidenciando seu efeito antinociceptivo, Cechinel Filho et. al. 1996; Da Silva et. al. 2001; Cechinel Filho et. al. 2000; Data et. al. 2004). Entretanto, nenhum deles se ateve a elucidação do mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva do composto. Geralmente tais trabalhos são realizados com extratos de plantas das quais se isola a quercetina. O trabalho mais completo com o composto foi realizado por Picp, Cheave e Pringent (1991), antileishmania (SARKAR, et. al. 2002), demonstrando a vasta aplicabilidade do composto sobre os mais variados sistemas.

Santos (2002) em sua tese de doutorado, explorou com bastante ênfase o uso do vcomposto como agente antinociceptivo, avaliando o efeito do flavonóide em vários modelos de dor. Além disso, há também na literatura trabalhos referentes a toxicidade do composto.

Em um estudo bem conduzido pelo "National Toxicology Program" (1992), foi testada a toxicidade da quercetina. Ratos foram submetidos a uma dieta com quercetina em doses fixas calculada de forma tal que se assemelhasse com a dieta

estabelecida para humanos, por um período de 6 meses. Nesse estudo não foram encontrados indicativos de efeito tóxico. Um trabalho anterior de Picp, Cheav e Pringent (1991), já haviam demonstrado que o composto não exibia toxicidade.

Atualmente a quercetina é comercialmente utilizada como “suplemento alimentar”, indicada para o tratamento de asma, inflamação das articulações, catarata, gota, câncer, prostatite, diabetes, doenças cardiovasculares, etc. O produto é comercializado via internet, oferecido por vários laboratórios americanos e europeus (OSIEK, 2004) na forma de cápsulas, com dosagens variando entre 100 a 600mg/kg.

3.4 Mecanismos envolvidos na transmissão da dor

Calixto e colaboradores (2000) publicaram, uma síntese do processo doloroso de forma sucinta e bem arrojada, enfocando não só a classificação, como também os mediadores, moduladores, bem como toda a maquinaria envolvida no processo.

A transmissão da dor envolve várias interações entre mecanismos tanto periféricos quanto centrais, desde a superfície da pele até o córtex cerebral (FURST 1999, LOSER & MELZACK 1999), De acordo com a Associação para o Estudo da Dor (AED), a dor pode ser definida como uma sensação desagradável e uma experiência emocional associada a um dano tecidual, ou descrita como tal (MERSKEY e BOGDUK, 1994). Em adição, muitas desordens comumente ocorrem em pacientes com experiências de dor tais como: hiperalgesia (extrema sensibilidade ao estímulo doloroso), alodínia (resposta dolorosa a estímulos mecânicos não nocivos), e hiperestesia (sensibilidade anormal a estímulos sensoriais) (BESSON, 1999).

Há vários tipos de dor, nominalmente chamadas: nociceptiva, neurogênica, neuropática e psicogênica, as quais são associadas com a estimulação de nociceptores, dano do tecido neuronal, disfunção de um nervo ou fatores psicológicos, respectivamente (FURST, 1999; MILLAN, 1999).

Quando o critério de classificação é a duração da resposta algica o episódio doloroso pode ser transitório, agudo ou crônico. No tipo transitório a ativação da transdução nociceptiva é eliciada na ausência do dano tecidual. No tipo agudo ocorre injúria e ativação de nociceptores no local do tecido lesado. A dor crônica é comumente acompanhada por uma injúria ou doença, contudo ela pode ser

perpetuada por outros fatores diferentes daqueles que a causaram (LOESER e MELZACK, 1999).

Estudos pré-clínicos tem mostrado que ocorre expressão de novos genes (as bases para sensibilização neuronal e remodelamento) ocorrem por volta de 20 min após a injuria. A dor crônica pode iniciar mudanças comportamentais e histológicas por volta de 24 horas ou somente após intervenções tais como uma ligação transitória do nervo. Alguns autores se baseiam na clínica para sugerir que uma dor aguda pode rapidamente transforma-se em dor crônica (BESSON e CHAUD 1997, GRUBB 1998, CARR e GOUDAS, 1999).

O entendimento sobre o processo doloroso tem progredido de forma significativa nos últimos anos, em grande parte devido ao esclarecimento de mecanismos relacionados à fisiologia das fibras aferentes e ao processamento sináptico que ocorre no corno dorsal da medula (BESSON e CHAUD, 1997; GRUBB, 1998; FURST, 1999; MILLAN, 1999). Independentemente desses avanços os mecanismos de dor ainda continuam pouco compreendidos, sendo de extrema importância maiores estudos nessa área (GRUBB, 1998).

Nociceção é um mecanismo pelo qual os estímulos nocivos são transmitidos ao SNC (Sistema Nervoso Central) (FURST, 1999). Os nociceptores são neurônios sensíveis à dor, localizados na pele, vasos, músculos, face, juntas e vísceras. Eles são predominantemente mielinizados (A δ) ou não-mielinizados fibras (C) ativadas por estímulos nocivos (mecânicos, químicos ou térmicos) que conduzem estes sinais para o SNC (RUSSO e BROSE, 1998; MILLAN, 1999).

Todos os tecidos com exceção dos neurófilos do SNC são inervados por fibras aferentes embora suas propriedades diferem marcadamente dependendo se a inervação é somática (peles, juntas, músculos, sistemas gastrintestinal, cardiovascular, respiratório, renal ou reprodutivo) (DRAY et. al. 1997). Os corpos celulares desses nociceptores se inserem na rota do gânglio dorsal adjacente ao cordão espinhal, os nociceptores primários fazem uma sinapse no corno dorsal com neurônios de segunda ordem predominantemente na lâmina 2 (substância gelatinosa) do cordão espinhal.

Os neurônios de segunda ordem atravessam o cordão espinhal para ascender no trato espinotalâmico com suas fibras terminais predominantemente localizadas no tálamo. No tálamo, neurônios de terceira ordem enviam axônios subseqüentes através da cápsula interna para o córtex somatosensorial quando

ocorre estímulos nocivos discretos ou emitem axônios para o giro cingulado anterior o qual está envolvido nos componentes emocionais da dor. A trajetória da dor descrita acima representa a rota clássica, porém existem outras rotas possíveis envolvendo diferentes estruturas (BESSION, 1999).

Em adição, o trato espinotalâmico parece ramificar-se em direção mediana e rostral do SNC estabelecendo sinapses com regiões nucleares complexas incluindo o Núcleo Magnus da Rafe (NRM) e os Núcleos Reticulares Gigantocelulares (NRG) ambos os quais parecem estar envolvidos em alguma regulação descendente da atividade de neurônios de segunda ordem (RUSSO & BROSE, 1998; FURST, 1999; BESSION, 1999; MILLAN, 1999).

Os neurotransmissores envolvidos nesta inibição descendente (tais como opióides endógenos, serotonina, noradrenalina, dopamina) todos parecem inibir o disparo dos neurônios de segunda ordem em presença de estímulos nocivos (RUSSO e BROSE, 1998; FURST, 1999; MILLAN, 1999). Entretanto, nocicepção não é uma sensação uniforme, ambas qualidades de dor e a iniciação da resposta protetora são determinadas por muitos fatores decorrentes do cordão espinhal e em estruturas cerebrais superiores envolvidos na integração e modificação de sinais nociceptivos.

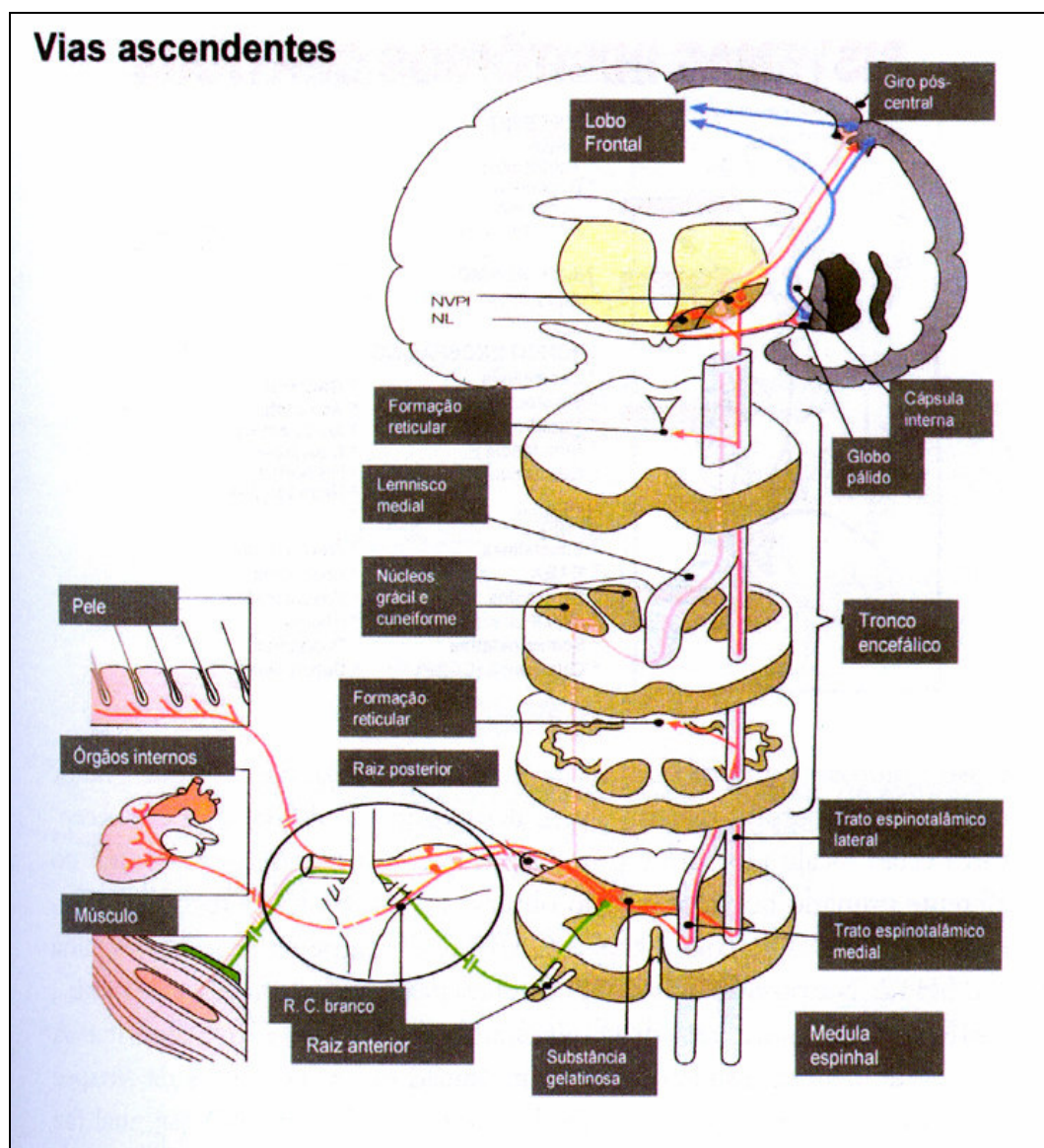


Figura 02 - Vias de transmissão do processo doloroso (Dor.Saerj Cavalcanti e Maria Luiza Maddalena; Rio de Janeiro, 2003).

A ação direta ou indireta dos mediadores químicos, assim como metabólitos do ácido araquidônico (prostaglandinas e leucotrienos), peptídeos (cininas, taccininas, peptídeos relacionados com o gene da calcitonina, galanina, colicistoquinina, peptídeo intestinal vasoativo), serotonina, acetilcolina, citocininas, fator de crescimento neuronal, glutamato, óxido nítrico, ATP, ADP, adenosina e prótons, entre outros, os quais podem ser produzidos ou liberados após injúrias teciduais ou por aplicação de irritantes exógenos (formalina, ácido acético, capsaicina, alguns venenos, etc.), são responsáveis por uma série de eventos que ocorre durante a transmissão da dor, em ambos o sistema nervoso central e periférico (COLLIS e HOURANI, 1993, BELTRAGE, et al., 1995; SAWYNOK J,

REID, POON, 1998).

Há várias origens importantes de geração dos mediadores patofisiológicos: danos teciduais, danos vasculares, sistema imunológico etc. Esses mediadores podem atuar via a multiplicidade de receptores os quais são largamente distribuídos através de nervos periféricos e centrais, muitos dos quais são acoplados a proteínas-Gs e associados com a formação de múltiplos segundos mensageiros como por exemplo as proteínas-quinases A, C e G, AMPc, GMPc e mobilização intracelular de cálcio. Outros neurotransmissores, assim como ácido- γ -amino-butílico (GABA), acetilcolina (atuando em receptores nicotínicos) ativam diretamente canais iônicos, e em adição controlam a permeabilidade iônica da membrana (WOOD e DOCHERTY, 1997). Vários fatores, incluindo aqueles danos teciduais e físicos, exposição a mediadores inflamatórios tais como prostaglandina E₂, bradicininas, substância P, histamina, adenosina e serotonina, são conhecidos por causar sensibilização de nervos levando a estímulos de nociceptores (BESSON, 1999; MILLAN, 1999).

Em vista da multiplicidade de mecanismos conhecidos (e desconhecidos) para modular a dor, a ocorrência na literatura de muitos compostos que possam direta ou indiretamente modular sua transmissão não é surpreendente. Mesmo assim, poucos são aqueles com suficiente seletividade de ação ou potência e conseqüentemente interesses clínicos. Desta forma, a descoberta de fármacos analgésicos se faz necessário e, os mesmos podem produzir seus efeitos ora modulando a liberação de mediadores analgésicos endógenos, ora inibindo a liberação de neurotransmissores algogênicos através de mecanismos pré ou pós-sinápticos, a nível central e periférico (BESSON, 1999; MILLAN, 1999; CAVALCANTI & MADDALENA 2003).

Neste contexto, a quercetina vem se apresentando como um dos compostos analgésicos mais promissores, o que nos levou a estudar a sua propriedade antinociceptiva de forma mais abrangente, confirmando não só sua ação farmacológica, como também investigando os mecanismos pelos quais ela possa estar atuando.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção dos flavonóides

Foram estudados especificamente os flavonóides já isolados de algumas plantas em estudo no NIQFAR ou em parceria com outras instituições de pesquisa. Os flavonóides utilizados foram: Quercetina, Rutina, Luteolina, Cinarosídio, Kempferitrina, Vitexina, Isoquercitrina, Morina e Orientina. Destes, a quercetina foi escolhida para os estudos de mecanismos de ação. Os compostos foram obtidos utilizando-se técnicas fitoquímicas específicas conforme métodos descritos em trabalhos anteriores. Os compostos em estudo foram isolados pelo grupo de química do NIQFAR, dentre os quais destacam-se *Wedelia paludosa*, *Ipomoea-pés-caprae*, *Epidendro moseni*, *Rubus imperialis* etc. A quercetina, especificamente foi obtida da *Ipomoea-pés-caprae* mas, pela necessidade de quantidades maiores para os testes e, por ser comercializada, foi utilizada na forma comercial. (CECHINEL FILHO e YUNES, 1998; CECHINEL FILHO, 2000).

4.2 Tratamentos

A dose utilizada para os *screening* dos flavonóides foi de 10 mg/kg. Foram feitas curvas dose-resposta para a quercetina e a dose utilizada para o estudo do mecanismo de ação foi de 10 mg/kg ip. As vias de administração escolhidas para o estudo foram a intraperitoneal e oral.

4.3 Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* de ambos os sexos, pesando entre 18g a 35g, obtidos do Biotério Central da UNIVALI, onde eram aclimatados a 22 ± 2 °C, num ciclo de 12 h claro e 12 h escuro e tratados com ração e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos no laboratório 1 hora antes da realização dos experimentos para aclimação, sendo que os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas internacionais para o estudo com os animais de laboratório (ZIMMERMANN, 1983).

4.4 Reagentes

Para os ensaios farmacológicos, foram utilizados os seguintes fármacos e/ou compostos: Flavonóides, Ácido acético 0,6%, Salina 0,9%, Formalina 2,5%, solução tampão fosfato (PBS) (Merck AG, Darmstadt, Alemanha), Capsaicina (1,6 µg/pata diluído em álcool absoluto), Glutamato (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) (30 µmol/pata), Naloxona (Reserch Biochemical International, Natick, MA, EUA) (1 mg/kg, i.p), Prazosin (0,15 mg/kg, i.p), Yoimbina (0,15 mg/kg, i.p), Fenilefrina, Clonidina, Cetanserina (1 mg/kg, i.p.), L-arginina, (600 mg/kg, i.p.), L-NOARG (75 mg/kg, i.p.), Haloperidol (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA) (2 mg/kg), Bicuculina (0,7 mg/kg), Faclofeno (3,0 mg/kg), Muscimol (1,0 mg/kg), Baclofeno (Tocris, Balwin, MO, EUA) (1,0 mg/kg), acetilcolina (1,0 mg/kg), tiopental (40 mg/kg) , morfina (Merck AG, Darmstadt, Alemanha) (5 mg/kg, s.c.) e metilsergida (Sandoz AG, Baesel, Suíça) (5 mg/kg. i.p). As diluições foram realizadas em NaCL estéril (0,9%) ou PBS (exceto as que necessitaram de tweem 80 ou DMSO) á temperatura ambiente.

4.5 Ensaios farmacológicos

a) Modelo de dor induzida pelo Ácido acético

A resposta nociceptiva foi induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético (0,6%) diluído em solução salina. Basicamente as contorções abdominais consistem na contração da musculatura abdominal juntamente com a extensão de uma das patas posteriores de acordo com o método descrito anteriormente (COLLIER, DINNIN, JOHNSON. 1968, BENTLEY, NEWTON e STARR., 1981). Grupos de animais foram pré-tratados com os diferentes compostos inclusive com a quercetina por via intraperitoneal (0,5 h) ou via oral (1,0 h) antes da injeção do ácido acético, respectivamente.

Os grupos controles receberam o mesmo volume dos veículos (10 ml/kg) utilizados para diluir os compostos. Após a injeção do ácido acético os animais foram imediatamente colocados sob funis de vidros individuais, e o número de contorções abdominais foi quantificado cumulativamente durante um período de 20 min. A atividade antinociceptiva foi determinada tomando-se como base a inibição do número das contorções abdominais dos animais pré-tratados com os compostos.

b) Modelo de Dor induzida pela formalina

Para confirmação do possível efeito antinociceptivo da quercetina o procedimento utilizado foi similar ao descrito por Hunskaar e Hole (1987). Os animais receberam 20 µl de formalina a 2,5% (0,92% de formaldeído) na região subplantar da pata posterior direita ou esquerda (HUNSKAAR E HOLE 1987). Após a injeção de formalina os animais foram imediatamente colocados, individualmente, sob um funil de vidro, ao lado de um espelho para facilitar a observação. O tempo em que os animais permaneceram lambendo ou mordendo a pata injetada com formalina foi cronometrado, sendo esse tempo, considerado como indicativo de dor. Neste modelo são considerados dois tipos de dores: a neurogênica (aguda) e a inflamatória (crônica).

A fase neurogênica da dor compreende os 5 primeiros minutos enquanto que a fase crônica corresponde aos últimos 15 minutos do teste. Ao final do tempo de observação, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical.

Os animais receberam quercetina 10 mg/kg 30 minutos antes do teste da formalina a 2,5%.

c) Modelo de Dor induzida pela capsaicina

Cada animal foi colocado individualmente sob um funil de vidro transparente, por um período de adaptação de no mínimo 20 minutos e que posteriormente, foi utilizado para observar a reação à dor induzida pela capsaicina, cronometrando-se durante 5 minutos o tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata. Cada animal recebeu 20 µl de solução de capsaicina (1,6 µg/pata), injetada na região intraplantar da pata posterior direita. Após 30 minutos do tratamento com a quercetina foi cronometrado o tempo que o animal levou para lamber ou morder a pata injetada com capsaicina durante 5 minutos. Tal comportamento foi considerado como indicativo de dor (SAKURADA e colaboradores, 1992)

d) Modelo Dor induzida pelo glutamato

Este modelo foi desenvolvido recentemente por Beirith e colaboradores (2002) com a finalidade de avaliar os fármacos que atuam sobre o sistema glutamatérgico envolvido na transmissão nociceptiva.

Após o pré-tratamento com a quercetina (10 mg/kg) e/ou controles os animais foram colocados individualmente sob um funil de vidro transparente. Cada animal

recebeu 20 µl de solução de glutamato (30 µmol/pata), injetada na região intraplantar da pata posterior direita e foi observado 30 minutos após o tratamento. O teste consiste em observar durante 15 minutos o tempo gasto pelos animais em lambar ou morder a pata injetada pelo glutamato. Este tempo foi considerado indicativo de dor (BEIRITH, SANTOS, CALIXTO, 2002).

e) Dor induzida por estímulo térmico: teste da placa quente

A atividade antinociceptiva da quercetina foi também analisada através do modelo da placa quente. Este modelo foi desenvolvido por Eddy e Leimback em 1993 e, mede o limiar antinociceptivo de compostos e/ou substâncias com analgesia semelhante aos opióides. Os animais foram colocados sob um funil de vidro sobre a superfície de uma placa de metal previamente aquecida a uma temperatura de 56 ± 2 °C utilizando-se um banho-maria. O tempo em segundos que o animal levou para lambar, levantar ou morder as patas dianteiras ou traseiras sobre a placa previamente aquecida foi cronometrado e considerado como indicativo de dor (EDDY E LEIMBACK, 1953). Os animais foram selecionados 24 horas antes do teste quando foram colocados na placa sem qualquer tratamento. No dia seguinte, grupos de animais selecionados foram tratados com quercetina, morfina e/ou controles e 30 min após foi realizado o teste. Não foi permitida a permanência dos animais sobre a placa por tempo superior a 30 segundos evitando-se assim danos teciduais decorrentes de possíveis queimaduras.

4.5.1 Análise do mecanismo de ação antinociceptiva da quercetina

Uma vez escolhido o composto flavonóide que obteve a maior eficácia, (a quercetina) passou-se a estudar o possível mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva. As vias de neuromodulação estudadas no presente trabalho foram: via adrenérgica, opióide, dopaminérgica, oxidonitrérgica, colinérgica e via dos glicocorticóides endógenos. O modelo farmacológico escolhido para estudo das vias e suas possíveis influências sobre o efeito antinociceptivo da quercetina foi o modelo do ácido acético. O protocolo adotado está representado abaixo, através do fluxograma apresentado.

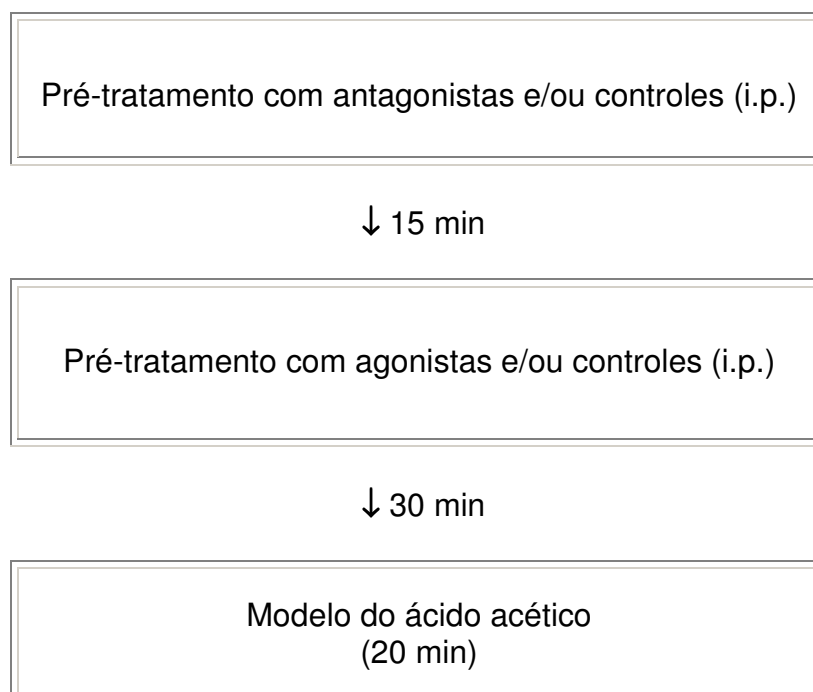


Figura 03 - Fluxograma do protocolo utilizado no estudo para determinar o mecanismo de ação da quercetina.

a) Influência do sistema opióide

Com o objetivo de evidenciar a participação do sistema opióide sobre a atividade antinociceptiva da quercetina,

Os animais foram pré-tratados com os antagonistas dos receptores opióides do tipo μ (naloxona), (1 mg/kg, i.p.) 15 minutos antes da administração dos diferentes compostos ou da morfina (controle positivo) e da quercetina.

Após 30 minutos de tratamento dos animais com os agonistas e/ou quercetina, foi analisado a possível reversão do efeito. A atividade antinociceptiva da quercetina também foi avaliada no teste da placa quente, que é um modelo de dor sensível para drogas que atuam centralmente como a morfina e seus derivados.

b) Influência do sistema alfa (α)-adrenérgico

Os animais foram pré-tratados com os antagonistas dos adrenoceptores do tipo α_1 (prazosina) ou α_2 (ioimbina) (0,15 mg/kg, i.p.) 15 minutos antes da administração dos diferentes compostos: fenilefrina (agonista α_1 -adrenérgico) ou de clonidina (agonista α_1 -adrenérgico) (controles positivos) e da quercetina. Após 30 minutos do tratamento dos animais com os agonistas e/ou quercetina, foi analisado a possível reversão do efeito antinociceptivo da mesma causado pelo ácido acético.

c) Influência do sistema serotoninérgico

Num primeiro, os animais foram pré-tratados com metilsergida (5,0 mg/kg, i.p.) antagonista não seletivo de serotonina (5-HT) e cetanserina (1 mg/kg, i.p., antagonista dos receptores 5-HT₂) 15 minutos antes da administração da quercetina. Após o período de tratamento dos animais que receberam quercetina foi analisado a possível reversão do efeito antinociceptivo da mesma em relação a nocicepção causada pelo ácido acético. No segundo experimento grupos de animais foram pré-tratados com Para-cloro-fenilalanina (PCPA, 100 mg/kg, i.p.) inibidor da produção de serotonina e/ou salina por 4 dias consecutivos. No ultimo dia, 15 minutos após o tratamento com PCPA e/ou controle os animais foram tratados com quercetina e, decorrido 30 minutos foram submetidos ao teste do ácido acético.

d) Influência do sistema Dopaminérgico

Os animais foram pré-tratados com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo de receptores dopaminérgicos) e, após 15 minutos, os animais receberam quercetina e/ou apomorfina (1 mg/kg, i.p., agonista dopaminérgico não seletivo) ou o veículo. Decorridos 30 minutos, os animais foram analisados em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

e) Influência da adrenalectomia

Os animais foram anestesiados com tiopental (40 mg/kg) e as glândulas adrenais foram retiradas através de uma incisão na região dorsal do animal como descrito por Santos (2001). Após a cirurgia os animais retornaram para suas caixas, tendo livre acesso à água e comida, sendo que no grupo dos animais operados foi substituída a água por solução fisiológica, com o intuito de manter a concentração fisiológica de sódio no plasma. Outros grupos de animais falso-operados (grupo Sham) tiveram livre acesso à água e comida. Decorridos o período de 7 dias, os animais operados e os falso-operados foram tratados com quercetina e 30 minutos após o tratamento foi analisada a possível reversão do efeito antinociceptivo da quercetina em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

f) Influência do Sistema Óxido nítrico-L-arginina

Os animais foram pré-tratados com L-arginina (precursor de NO, 600 mg/kg, i.p.), D-arginina (isômero inativo, 1 mg/kg), 15 minutos antes da administração dos

diferentes compostos ou de L-NOARG (inibidor da síntese de NO, 75 mg/kg, i.p.). Após o período de tratamento dos animais com quercetina ou com L-NOARG, foi analisada a possível reversão do efeito antinociceptivo das diferentes drogas em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

g) Influência do Sistema GABAérgico

Os animais foram pré-tratados com os antagonistas dos receptores GABA_A (bicuculina, 1 mg/kg, i.p.) ou GABA_B (faclofeno, 1 mg/kg, i.p.) 15 min antes da administração de: muscimol (1 mg/kg, agonista dos receptores GABA_A) ou de baclofeno (1 mg/kg, agonista dos receptores GABA_B) e quercetina. Após o período de tratamento dos animais com quercetina ou drogas padrão, foi analisada a possível reversão do efeito antinociceptivo das diferentes drogas em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

h) Influência do Sistema Colinérgico

Os animais foram pré-tratados com o antagonista colinérgico não seletivo atropina (1 mg/kg, i.p.) 15 minutos antes da administração da quercetina e da acetilcolina (ACh/ 1 mg/kg). Decorridos 30 minutos do tratamento dos animais com a quercetina e a ACh, foram analisadas as possíveis reversões do efeito antinociceptivo das mesmas, em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

4.5.2 Análise Estatística

Os resultados foram apresentados como a média \pm erro padrão da média para cada grupo de experimentos, exceto as DI₅₀s (dose da quercetina que reduz a resposta em 50% em relação ao grupo controle), que foram apresentadas como médias geométricas acompanhadas de seus respectivos limites de confiança, em nível de 95%.

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas por meio de análise da variância seguida pelo teste de múltipla comparação utilizando-se o método de Dunnett e/ou Newman-Keuls, quando apropriado. Valores de P <0,05 foram considerados como indicativo de significância. As DI₅₀ foram estimadas a partir de experimentos individuais utilizando-se o método de regressão linear através do programa GraphPad[®] (Prism).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Nociceção induzida pela injeção de ácido acético

A primeira etapa do presente trabalho foi analisar o efeito antinociceptivo de oito flavonóides através do modelo de dor induzida pelo ácido acético, utilizando-se somente a dose de 10 mg/kg. Foram testados: Rutina, Quercetina, Luteolina, Cinarosídeo, Isoquercetrina, Kaempferol, Morina e Orientina. Os resultados mostraram que todos os compostos foram eficazes em reduzir o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Entretanto, os compostos Morina, Quercetina, Kaempferol e Orientina foram os mais eficazes em reduzir o número de contorções abdominais com inibições de 82,18%, 75,32%, 73,81% e 70,26%, respectivamente (Quadro 01).

O estudo de novos agentes derivados de plantas farmacologicamente ativos tem levado a descoberta de muitos fármacos usados clinicamente para o tratamento de doenças. Cerca de 25% de todo o arsenal de fármacos modernos são derivados direta ou indiretamente de plantas (FARNSWORTH e BINGEL, 1997; NIERO et al, 2003). Especificamente para o tratamento da dor, os princípios ativos derivados de plantas têm sido alvo de interesse de muitos laboratórios acadêmicos e/ou industriais uma vez que, a comunidade médica necessita urgentemente de novos analgésicos efetivos e potentes para o tratamento de dores, principalmente as dores crônicas resultantes dos processos neoplásicos ou injúrias neurais.

Dos metabólitos secundários sintetizados a partir de plantas, os flavonóides constituem o grupo mais estudado e mais promissor quanto aos aspectos abordados acima (WANG, 2000; BORRELI e IZZO 2000, BITTAR 2000, CALIXTO et. al. 2000). Dos flavonóides em estudo, a quercetina é, provavelmente, o composto isolado de plantas que mais tenha sido estudado. A ela foram propostas e confirmadas muitas propriedades farmacológicas. O composto exibe um amplo leque de atuação sobre os vários sistemas corporais influenciando processos centrais e periféricos como já relatados anteriormente no presente trabalho. Desta forma, devido a sua abundância no reino vegetal e também, para dar continuidade aos estudos já iniciados com o composto, a quercetina foi escolhida para os estudos de mecanismo de ação de sua propriedade antinociceptiva.

Quadro 01 – Efeito de Flavonóides administrados por via i.p. sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos (i.p.)

Tratamento	Dose (mg/kg)	Nº de contorções	Inibição Máxima (%)
Veículo	-	46,89 ± 2,75	-
Cinarosídeo	10	24,33 ± 2,29**	48,11
Isoquercetina	10	24,00 ± 5,72**	48,81
Kaempferol	10	12,28 ± 3,46***	73,81
Luteolina	10	30,94 ± 3,02*	34,01
Morina	10	8,71 ± 5,57***	82,18
Orientina	10	13,34 ± 2,48***	70,26
Quercetina	10	11,57 ± 1,41***	75,32
Rutina	10	16,60 ± 3,54***	64,59

Cada grupo representa a média ± E.P.M. de 6 a 10 animais. Diferença significativa quando comparado com o veículo *P<0,05; **P<0,01. ***P<0.001. Teste de Dunnett.

Conforme nos mostra o quadro 01, dos oito flavonóides testados com a dose única de 10 mg/kg no modelo do ácido acético, a ordem de efetividade na redução do número de contorções foi: morina > quercetina > kaempferol > orientina > rutina > isoquercetina = cinarosídeo. Mesmo sendo a quercetina menos efetiva do que a morina, este foi o composto escolhido para os estudos mais aprofundados.

Também foi feita uma curva dose-resposta com o composto pela via i.p. (figura 04/A). Neste experimento verificou-se que a quercetina já exibe atividade antinociceptiva com a dose de 3 mg/kg, entretanto não foi observado diferença quanto a atividade nociceptiva quando se compara as doses de 10 e 30 mg/kg. Em ambos os casos a eficácia é igual.

Quando administrado por via oral observou-se que somente na dose de 500mg/kg ocorreu redução significativa do número de contorções induzidas por ácido acético (figura 04, B). As DI_{50s}, bem como as IMs são apresentadas no quadro 02 e comparadas a analgésicos tradicionais utilizados terapêuticamente.

A verificação do efeito antinociceptivo por via oral é de suma importância, pois a maioria dos fármacos disponíveis no mercado são administrados por essa via. Além disso, o uso de plantas medicinais são normalmente realizados na forma de chás ou decotos, utilizando-se também esta via de administração.

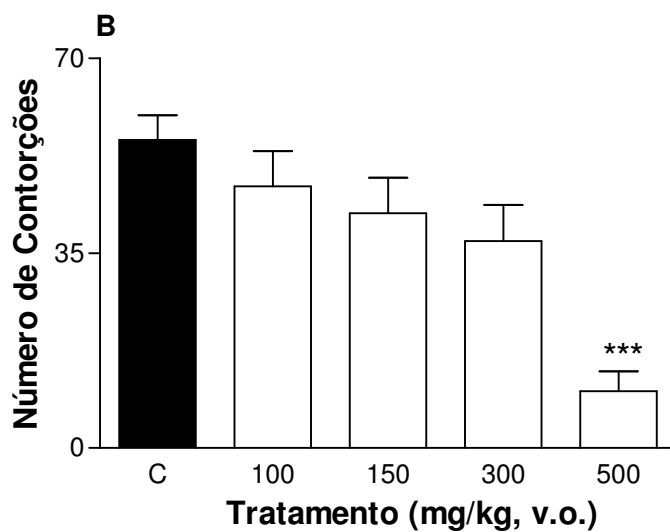
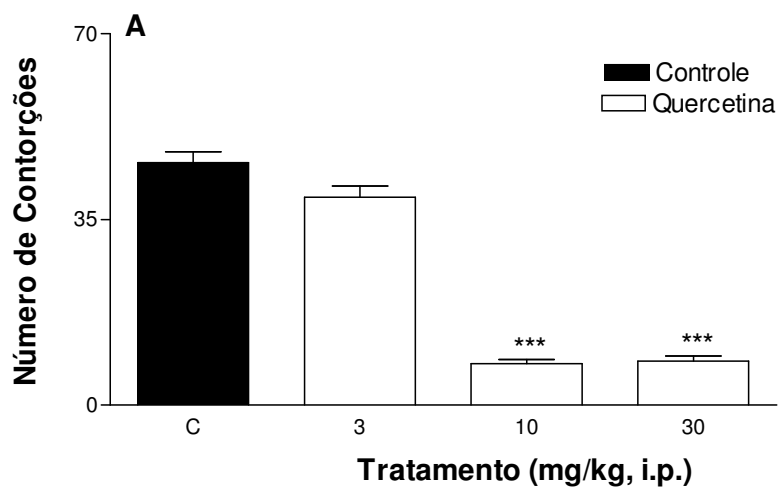


Figura 04 – Efeito antinociceptivo da quercetina administrada pela via intraperitoneal (A) ou via oral (B) sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. Cada grupo representa a média \pm E.P.M. de 6 a 8 animais, e as linhas verticais. Asteriscos denotam diferenças estatísticas entre os tratamentos e o grupo controle, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Quadro 02: Comparação dos valores das DI_{50s} e inibição máximas (IMs) calculadas para a quercetina, paracetamol e aspirina no modelo de dor induzida por ácido acético

Tratamento	DI_{50} (mg/kg)	DI_{50} (μ mol/kg)	Inibição Máxima (%)
Quercetina (v. o.)	304,97 (225,86 – 411,79)	1051,62 (778,82 – 1419,96)	75,50 \pm 1,8
Quercetina (i. p.)	7,58 (5,29 – 9,0)	24,62 (18,24 – 31,03)	75,72 \pm 1,0
Paracetamol (i. p.)*	19,00 (16,0 – 23,0)	125,80 (105,9 – 152,3)	88,00 \pm 1,0
Aspirina (i. p.)*	24,00 (13,0 – 44,0)	133,00 (72,2 – 244,0)	83,00 \pm 1,4

*Dados retirados de De Souza et al. 1998, 2002.

Também no modelo do ácido acético procurou-se verificar o tempo total de ação da propriedade antinociceptiva do composto em estudo. Conforme nos mostra a Fig 5, o efeito antinociceptivo da quercetina perdura por um período de até seis horas após a sua administração.

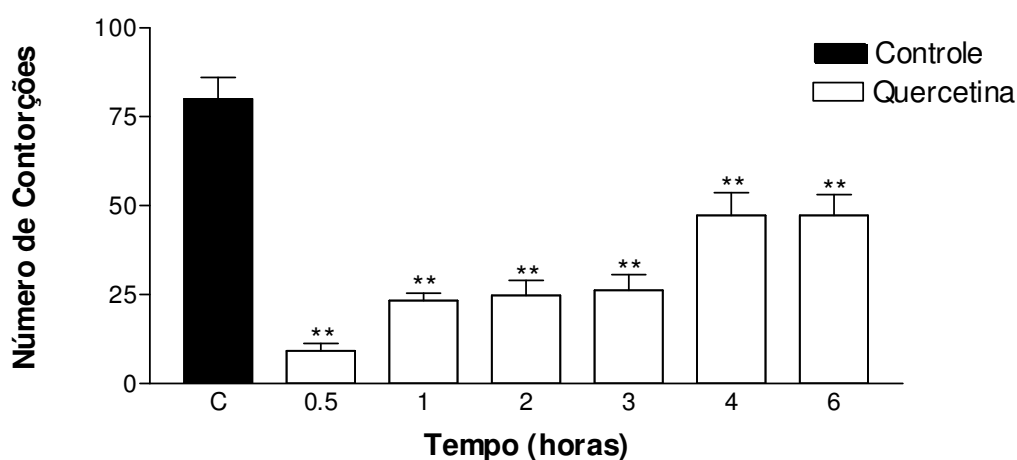


Figura 05 – Duração do efeito da quercetina, administrada pela via i.p. (10 mg/kg) no modelo do ácido acético em camundongos. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do grupo controle, ** $P < 0,01$.

Além dos motivos expostos anteriormente, o interesse no estudo do papel modulatório da quercetina no controle da dor deve-se ao fato de que na literatura, não foram encontrados estudos que demonstram o papel específico deste flavonóide no efeito antinociceptivo, aliado ao fato que o seu mecanismo de ação não está totalmente esclarecido. Nossos resultados estendem os dados descritos na literatura e demonstram que a quercetina, administrada pela via i.p. e oral apresentam efeito

antinociceptivo quando analisada na nocicepção induzida pela injeção de ácido acético em camundongos.

Vários estudos têm mostrado que apesar de ser considerado por muitos pesquisadores como modelo farmacológico dos mais simples disponíveis, o modelo do ácido acético apresenta sensibilidade à varias drogas analgésicas esteroidais e não esteroidais, bem como analgésicos semelhantes à morfina e com ação central (SIEGMUND et. el. 1957; BLUMBERG et. al. 1965; BLANE et. al., 1967). Os estudos sobre os mediadores liberados no local da injeção do ácido acético datam de 1967 e se estendem até os dias atuais. Whittle (1964) demonstrou que o ácido acético atua de forma indireta causando a liberação de mediadores endógenos envolvidos na modulação do processo doloroso, dentre os quais inclui-se a bradicinina, a serotonina, a histamina e as prostaglandinas. Em estudo, recentemente Ribeiro e colaboradores (2000) mostraram que a nocicepção induzida pelo ácido acético também depende da liberação de citocinas, como a IL-1 β , TNF- α e a IL- δ , por macrófagos e basófilos residentes na cavidade abdominal, e que em conjunto com os mediadores anteriormente referidos induzem a dor característica e o comportamento perante ela, observada nesse modelo. Desta forma, a dor abdominal induzida por ácido acético pode ser prevenida por diversos agentes terapêuticos cujo sítio de ação é inibir a liberação de mediadores do processo doloroso como é o caso dos antiinflamatórios não esteroidais (AINES), que inibem a síntese de prostaglandinas (VANE e BOTTING, 1995; VANE et al., 1998).

Os estudos conduzidos em nossos laboratórios e em outros reforçam as constatações acima referidas sobre o efeito dos AINES no modelo do ácido acético (MACEDO 1999, NIERO et al. 2000, CAMPOS, MARTINEZ-LARREA 2002, De-SOUZA, CORREA, CECHINEL-FILHO et. al. 2002) e, sobre o efeito da quercetina. Santos (2000), demonstrou que o composto administrado por diferentes vias exibe efeito antinociceptivo no modelo do ácido acético, formalina e capsaicina. Picp, Cheav & Ptigent (1991), relataram os seus efeitos antinociceptivos neste modelo e, mais recentemente, Patil e colaboradores (2003) demonstraram que a quercetina modula a liberação da ciclooxigenase do tipo 2 (COX₂) e a NO-sintase, responsáveis respectivamente pela síntese de prostaglandinas e óxido nítrico, ambos os mediadores envolvidos na gênese do processo doloroso.

5.2 Nociceção induzida pela injeção intraplantar de formalina

Os dados apresentados na figura 06 (A e B) representam os resultados obtidos com a quercetina no modelo de dor induzida pela formalina. Os resultados nos mostram que a quercetina administrada intraperitonealmente causou inibição da dor induzida pela formalina de forma dose-dependente e estatisticamente significativa nas duas fases do processo doloroso. Entretanto, o efeito é mais pronunciado na segunda fase da dor (fase inflamatória) do que na primeira fase (fase neurogênica). Os valores médios da DI_{50} (juntamente com os intervalos de confiança de 95%) e as IMs estão representadas na tabela 03 e também comparados com analgésicos terapeuticamente utilizados na clínica.

Quadro 03: Comparação dos valores das DI_{50} s e inibição máximas (IMs) calculadas para a quercetina, paracetamol e aspirina no modelo de dor induzida pela formalina.

Tratamento (via i.p.)	Fase I DI_{50} ($\mu\text{mol/kg}$) IM%		Fase II DI_{50} ($\mu\text{mol/kg}$) IM%	
Quercetina	374,13 (68- 402)	34,85	103,04(45-2010	74,42 \pm 0.8
Aspirina*	Inativo		123,00 (77-209,0)	88,00 \pm 3.0
Paracetamol*	Inativo		120,0 (90-161,0)	85,00 \pm 3.5

* Dados retirados de Niero et. al. (1999).

Da mesma forma como ocorreu no teste das contorções induzidas pelo ácido acético, a quercetina foi mais potente que os demais fármacos utilizados terapeuticamente pela via i.p. Além disso, o composto exibe a vantagem de possuir efeito antinociceptivo na primeira fase do processo doloroso induzida pela formalina e os fármacos comparados não possuem tal propriedade.

Dubuisson e Dennis (1977) foram os primeiros a utilizar o modelo da formalina em gatos e que por limitações foi adaptado por Hunskaar e Hole em 1987, para camundongos e ratos. O modelo consiste na injeção intraplantar de uma solução de formaldeído diretamente na pata do animal, sendo conhecido por induzir dor intensa por estimulação direta de nociceptores.

A dor causada pela injeção intraplantar de formalina é caracterizada por

vigorosas lambidas, mordidas e batidas na pata injetada com o agente flogístico. O modelo é utilizado amplamente por muitos pesquisadores devido a características bastante peculiares. Através dele pode-se avaliar o efeito de drogas em dois tipos de dor, a neurogênica (aguda), correspondente a primeira fase do modelo e caracterizada nos 5 primeiros minutos e, a dor inflamatória (crônica) correspondente a segunda fase do modelo e caracterizada nos 15 últimos minutos do modelo e associada a processos inflamatórios (SHIBATA et. al. 1989, TjøISEN e HOLE 1997).

Durante a primeira fase (neurogênica) as fibras eferentes do tipo C e, em parte, as do tipo A δ são ativadas (HEAPY et. al. 1987) e ocorre a liberação de vários mediadores químicos como a substância P, o glutamato e a bradicinina. Já, na segunda fase, ocorre a liberação de histamina, serotonina e prostaglandinas, além de bradicinina em seu segundo pico de liberação (SHIBATA et al. 1989). Através de técnicas de CLAE (Cromatógrafo Líquido de Alta Eficácia), foi constatado que a injeção intraplantar de formalina na pata posterior de ratos conscientes, causou um aumento significativo de vários aminoácidos excitatórios como o glutamato, o aspartato, a taurina e a glicina, além de causar o aumento de prostaglandinas do tipo E₂ durante a 2ª fase do processo doloroso (MALMBERG e YAKSH, 1995). No mesmo ano, Seguin e colaboradores (1995), demonstraram que a administração subcutânea de antagonistas seletivos dos receptores taquicinérgicos do tipo N₁ e NK₂ foram capazes de reduzir ambas as fases de dor induzida pela formalina. Dando prosseguimento aos trabalhos de Santos e Calixto, (1997), mostraram que os receptores κ_3 quando bloqueados, também inibem ambas as fases da dor.

Ainda com relação ao modelo da formalina, as técnicas atuais de biologia molecular têm sido utilizadas não só para obtenção de mais informações sobre o modelo, como também para a compreensão do processo doloroso em si. De Felipe e Colaboradores (1998) demonstraram que animais “*knock-out*” para o receptor NK₁ têm a segunda fase do processo doloroso alterada. Cao e colaboradores (1998) e Zimmer e colaboradores (1998) mostraram que a ausência do gene da pré-pró-taquicininina A (PPT-A), que codifica a substância P e a neurocinina A, praticamente aboliu a inflamação neurogênica nos animais nocauteados, além de reduzir de forma bastante expressiva a primeira fase, não modificando entretanto a segunda fase do processo.

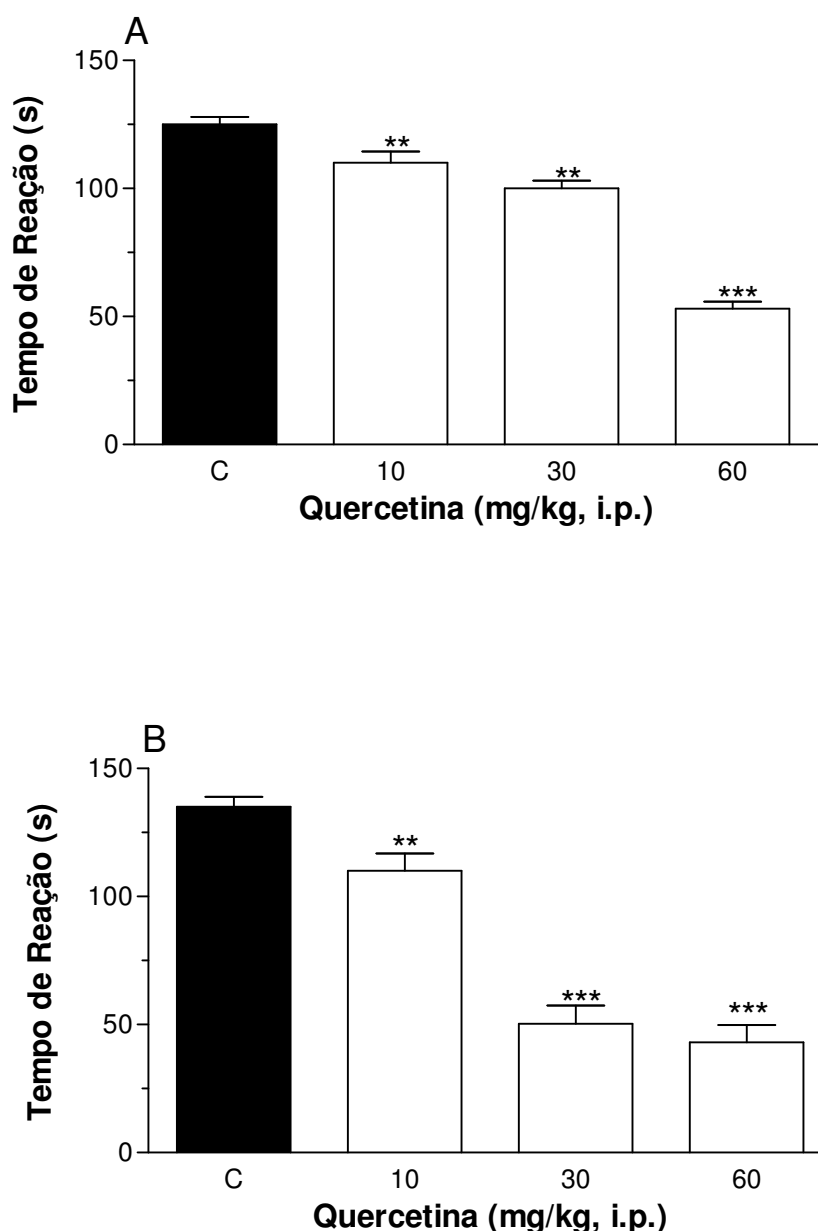


Figura 06 – Efeito da Quercetina administrada por via i.p. (10-60 mg/kg) em relação a primeira (painel A) e segunda (painel B) fase da dor induzida pela formalina. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do grupo controle, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Adicionados aos dados acima descritos, König e colaboradores (1996) verificaram que animais *Knock-out* para o gene das encefalinas têm a nocicepção aumentada na 1ª fase do modelo. Malmberg e colaboradores (1997) demonstraram que a ausência da subunidade I β da proteína quinase A, (PKA) foi capaz de diminuir

a sensibilidade dolorosa em ambas as fases. Os mesmos autores também mostraram que a proteína quinase C, (PKC) do tipo C γ , está envolvida no processo, pois sua falta causou redução específica da primeira fase da dor. Resultados contraditórios sobre o “*knock-out*” do receptor β_2 da bradicinina e da NO sintase foram encontrados. Crosby e colaboradores (1995) demonstraram que a ausência do receptor β_2 e da NO sintase não foi capaz de modificar a resposta nociceptiva causada pela injeção de formalina como o esperado. Entretanto, vários trabalhos descritos na literatura demonstram que antagonistas seletivos dos receptores β_2 e que inibidores da NO-sintase causam inibição das duas fases da dor (DRAY e PERKINS, 1997, CALIXTO 2000 b). Pesquero e colaboradores (2000) demonstraram que camundongos “*knock-out*” para receptores β_1 das cininas apresentaram uma diminuição da resposta nociceptiva induzida pela formalina.

Os nossos resultados confirmam e corroboram com resultados descritos anteriormente sobre o efeito da quercetina no modelo de dor induzida pela formalina. O composto foi capaz de inibir completamente a primeira fase, sendo mais efetivo em relação a segunda fase desse modelo. Nossos resultados confirmam resultados anteriores de Santos (2000) sobre o efeito da quercetina no modelo descrito, utilizando várias vias de administração. Também confirmam os resultados descritos por Block e colaboradores (1998) sobre os efeitos da quercetina e rutina, ambos os flavonóides isolados da *Wedelia paludosa*, trabalho este que despertou o interesse da continuidade de estudos explorando o composto no processo doloroso.

5.3 Nociceção induzida pela injeção de capsaicina

No presente estudo procurou-se analisar a possível ação antinociceptiva da quercetina na nociceção neurogênica induzida pela injeção intraplantar de capsaicina em camundongos. Sakurada e colaboradores (1992) foram os primeiros a demonstrar que a injeção intraplantar de capsaicina na pata posterior de camundongos causava vigorosa dor, caracterizada por lambidas e mordidas na pata injetada, sendo este efeito relacionado com a dor de origem neurogênica. A figura 07 mostra os resultados obtidos com esse modelo de dor.

O tratamento dos animais com a quercetina pela via intraperitoneal (10, 30, 60 mg/kg) promoveu a inibição da dor neurogênica induzida pela injeção intraplantar de

capsaicina (1,6 µg/pata). O efeito observado ocorreu de forma dose dependente, e foi muito similar a fase neurogênica induzida pela formalina. A DI_{50} calculada para esse modelo foi de 29,93 (27,45 – 32,64) mg/kg e a IM de 75.55%

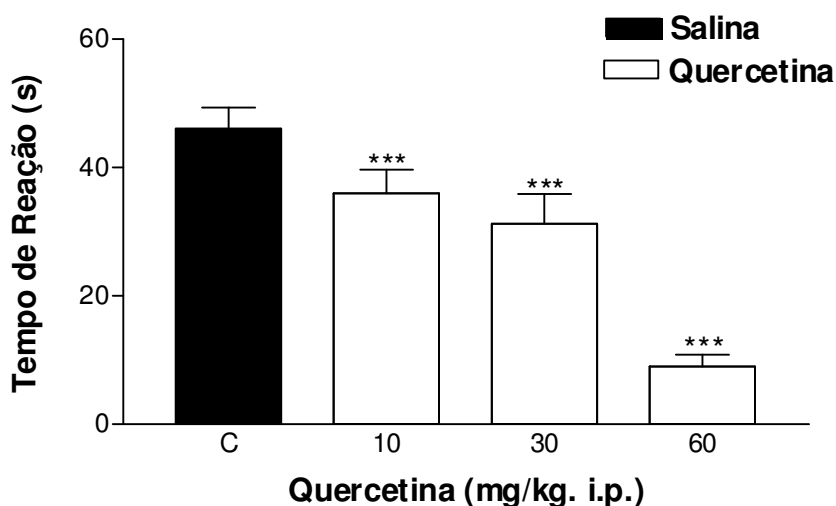


Figura 07 – Efeito da Quercetina (10, 30 e 60 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pela injeção intraplantar de capsaicina (1,6 µg/pata) em camundongos. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do grupo controle, *** $P < 0,001$.

A capsaicina é uma amina neurotóxica extraída da pimenta vermelha. Trata-se de uma ferramenta farmacológica bastante interessante, pois exerce um papel duplo no processo doloroso. Localmente aplicada, a capsaicina inicia uma série de reações hiperalgésicas e inflamatórias, mediada pelo aumento da permeabilidade da membrana ao cálcio (Ca^{+2}). A capsaicina excita os neurônios sensoriais eferentes, especificamente as fibras C e A δ que conduzem a informação nociceptiva ao sistema nervoso central, liberando vários neuropeptídeos incluindo as taquicinininas, peptídeo liberador do gene da calcitonina (CGRP) e somatostatina, além, de bloquear o transporte intra-axonal de macromoléculas tais como, o fator de crescimento neural (NGF) (GANSE et. al. 1981, SZOLCSANYI 1985, SZALLASI e BLUMBERG, 1999).

Jancso e Jancso (1949) mostraram que a capsaicina é o irritante natural que induz dessensibilização, um processo refratário desenvolvido rapidamente. Este fenômeno pode contribuir para a analgesia produzida após a primeira exposição da capsaicina e seus análogos. Decorrente desse fato, o tratamento com capsaicina causa uma depleção de substância P, assim como de receptores envolvidos em

terminações periféricas e espinhais de neurônios sensíveis a capsaicina em aproximadamente 24 horas (SZALLASI 1993).

Também tem sido demonstrado que baixas doses sistêmicas de capsaicina administradas a animais neonatais e adultos produz neurotoxicidade em fibras C desmielinizadas e que altas doses levam a um aumento prolongado ou permanente do limiar nociceptivo (HOLZER, 1991).

Recentemente foi demonstrado que a capsaicina atua através da ativação de receptores específicos que foram denominados de receptores vanilóides do tipo 1 (VR1). Tais receptores encontram-se presentes, sobretudo nos gânglios da raiz dorsal da medula espinhal e no gânglio trigêmeo. Tratam-se de receptores ionotópicos acoplados a um canal iônico com alta permeabilidade a cálcio, magnésio, sódio e potássio. Esses receptores uma vez ativados produzem despolarização e excitação dos neurônios levando a liberação de vários neuropeptídeos como descritos anteriormente (GAMSE et al. 1979). Caterina e colaboradores (2000) demonstraram que a falta de VR₁ em animais “*Knock-out*” aboliu completamente a resposta dolorosa induzida por capsaicina. Corroborando com tais resultados Santos e Calixto (1997b), demonstraram que antagonistas seletivos VR1 (vermelho de rutênio) administrados via no ventrículo de camundongos ou topicamente, foram capazes de reduzir a nocicepção induzida pela capsaicina. Estudos conduzidos por De-Campos et. al. (1999) e Corrêa e colaboradores (1996) mostraram que a bradicinina é liberada durante a indução dolorosa por capsaicina, uma vez que antagonistas β_1 e β_2 foram efetivos em reduzir a nocicepção neste modelo. Pesquero e colaboradores (2000) confirmaram essas observações quando utilizando animais nocauteados para B₁ no modelo, verificaram a diminuição da resposta nociceptiva. Além disso, Sakurada e colaboradores 1996 demonstraram que a nocicepção induzida por capsaicina pode ser mediada, pelo menos em parte por mediadores envolvidos na dor neurogênica (tal qual a primeira fase da resposta à formalina) dentre os quais: NO, neuropeptídeos (SP, NKA, e CGRP), além de aminoácidos como o glutamato. Mais recentemente, Santos (2000) demonstrou que os AINES seletivos e não seletivos para a COX₂ são eficazes em abolir a nocicepção neurogênica induzida pela capsaicina, sugerindo desta forma que as prostaglandinas podem também participar da gênese do processo doloroso induzido por ela. Nossos resultados também corroboram com os resultados de SANTOS (2000) sobre o efeito da quercetina no modelo utilizado (o da capsaicina),

e em conjunto com os resultados obtidos com a formalina, sugerem que o composto pode ser um tratamento promissor para dores neurogênicas, ressaltando as sugestões recentes de Schultke et al. (2003) do seu uso na terapêutica desse tipo de dor.

5.4 Nociceção induzida pela injeção intraplantar de glutamato

A injeção de glutamato induz a estimulação direta dos neurônios nociceptivos, pois este mediador químico é um dos principais neurotransmissores excitatórios do Sistema Nervoso Central. Seus receptores são encontrados em terminações nervosas espinhais de fibras aferentes primárias (FERREIRA, 2000). Com o objetivo de verificar a possível ação antinociceptiva da quercetina sobre o sistema glutamatérgico, foi utilizado o modelo proposto por Beirith et al. (2002).

Conforme nos mostra a Figura 08, o pré-tratamento com quercetina promoveu uma redução do processo doloroso induzido pelo glutamato. Entretanto, essa redução não ocorreu de forma dose-dependente. As doses de quercetina efetivas para reduzir a algia induzida pelo glutamato foram de 30 e 60mg/kg. A DI_{50} para o glutamato foi menor do que a dose de 60 mg/Kg e a IM nessa dose foi de $48 \pm 27\%$.

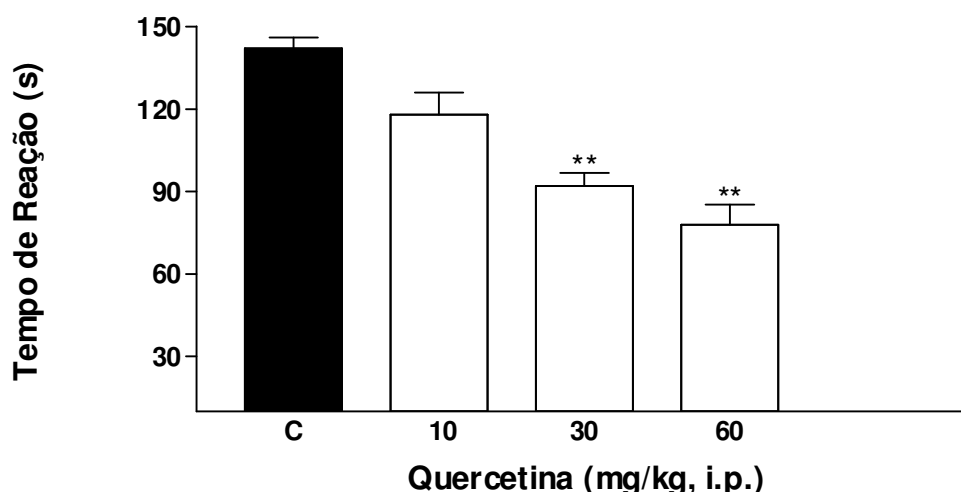


Figura 08 – Efeito da Quercetina (10, 30 e 60 mg/kg, i.p.) em relação a nociceção induzida pela injeção intraplantar de glutamato ($30 \mu\text{mol/pata}$) em camundongos. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do controle, ** $P < 0,01$.

Como visto anteriormente, o glutamato é um neurotransmissor (aminoácido excitatório) envolvido na dor neurogênica induzida pela formalina e pela capsaicina. Além disso, o glutamato é um dos neurotransmissores chave do SNC e é usado na transferência de informações entre os neurônios. Em fibras aferentes do tipo C ocorre a co-existência de neuropeptídeos com o glutamato, funcionando este como neuromodulador do processo doloroso (FURST, 1999). Além disso, há uma concentração muito grande de receptores para o glutamato no corno dorsal da medula e, em neurônios intrínsecos dessa localidade. (URCA e RAIGORODSKY, 1988). Os aminoácidos excitatórios como o glutamato podem atuar em dois tipos de receptores, os ionotrópicos como o N-Metil-D-aspartato (NMDA), Kainato e AMPA, os quais são ligados a canais iônicos, e também os receptores metabotrópicos, os quais são ligados a proteína G. O glutamato liberado de neurônios aferentes primários atuando em receptores AMPA é responsável pela primeira transmissão sináptica e a última sinapse que ocorre no corno dorsal da medula na transmissão do impulso doloroso. Os receptores metabotrópicos para o glutamato são expressos somente durante o aumento da excitabilidade espinal associada a hiperalgesia periférica (DRAY, 1992; DRAY e URBAN, 1996). Também em condições de dores crônicas, tem sido reportado o envolvimento do glutamato na neurotransmissão do impulso doloroso. Associado a isso, antagonistas do receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA) (por exemplo, a quetamina, utilizada clinicamente) produz analgesia (JENSEN e YAKSH, 1992). Os receptores NMDA parecem estar envolvidos não somente na nocicepção induzindo a síntese de NO através da ativação da NO-sintase, como também no desenvolvimento da tolerância a opióides, pois os inibidores da enzima têm se mostrado como excelentes preventores da tolerância desenvolvidas a esses agentes analgésicos.

Recentemente, Beirith e colaboradores (2002) propuseram que o glutamato pode ser utilizado como agente na indução da nocicepção. Neste sentido, substâncias que diminuem a nocicepção induzida por glutamato podem estar atuando em seus receptores como antagonistas ou inibindo a síntese de óxido nítrico pelo bloqueio da NO-sintase (BEIRITH, SANTOS, CALIXTO, 2002).

Nossos resultados mostraram que a quercetina promoveu inibição parcial da nocicepção induzida por glutamato. Recentemente Olsza-Necki e colaboradores (2002), em estudo muito bem conduzido, mostraram que muitos flavonóides, dentre os quais a quercetina promovem a inibição de NO-sintase do tipo II, induzida por

macrófagos tratados com LPS. Tais resultados podem então corroborar de forma direta, com a sugestão de que o efeito inibitório das quercetina na nocicepção induzida por glutamato poderia ser em parte, devido a inibição da NO-sintase, entretanto, estudos posteriores são necessários para a total explicação de tais fatos, uma vez que no estudo do mecanismo de ação, avaliando a via óxido nítrico, a L-arginina (precursor de óxido nítrico) reverteu o efeito antinociceptivo da L-NOARG (inibidor da síntese de NO), porém não reverteu o efeito da quercetina (ver resultados anteriores)

Após confirmar a propriedade antinociceptiva da quercetina, procuramos estudar alguns dos mecanismos (conhecidamente envolvidos no processo doloroso) pelos quais a quercetina poderia estar promovendo seus efeitos antinociceptivos. Para tanto, o modelo farmacológico utilizado foi o modelo de dor induzida por ácido acético.

5.5 Análise do mecanismo de ação antinociceptiva quercetina

5.5.1 Influência Do Sistema Opióide sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Procurando evidenciar a participação do sistema opióide sobre a atividade antinociceptiva da quercetina, grupos de animais foram pré-tratados com o antagonista dos receptores opióides não seletivo, a naloxona, (1 mg/kg, i.p.) 15 min antes da administração da quercetina ou da morfina (controle positivo, 5 mg/kg, s.c., agonista opióide não seletivo). Após o período de tratamento dos animais, foi verificado a possível reversão do efeito antinociceptivo do quercetina e da morfina em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

Os resultados apresentados na Figura 09 demonstram que o pré-tratamento dos animais com naloxona causou reversão completa do efeito antinociceptivo induzido pela administração de morfina. Entretanto, para os animais tratados com a quercetina (10 mg/kg, i.p.), não foi observada a reversão. Isto, sugere que o mecanismo de ação da quercetina parece não envolver a via opióide.

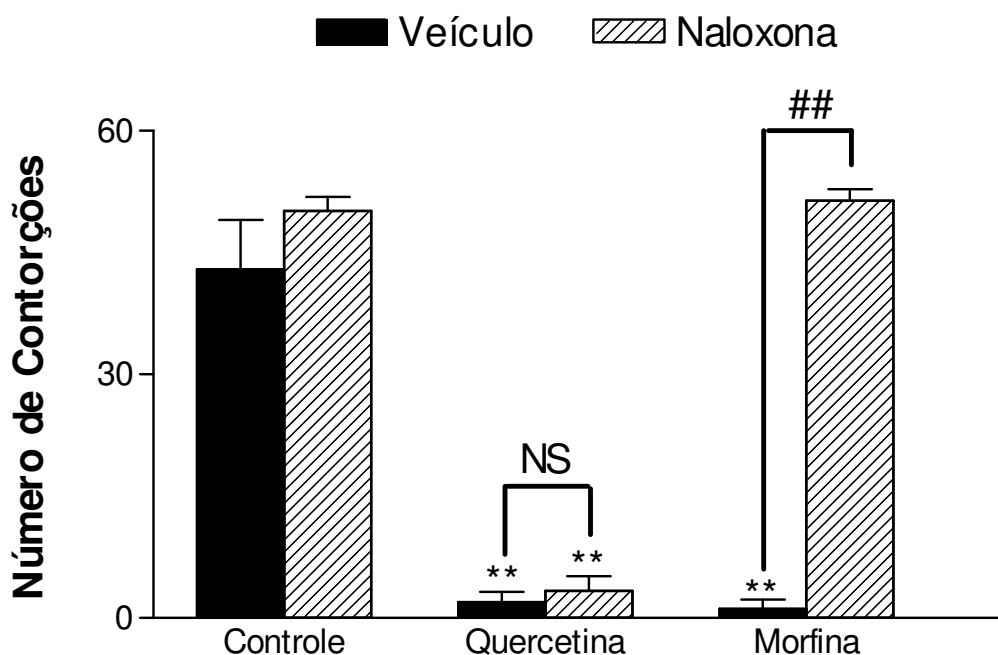


Figura 09 – Influência do pré-tratamento de camundongos com naloxona (1 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do controle, *** $P < 0,001$. NS não significante e ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com quercetina ou morfina na ausência de naloxona.

Os resultados apresentados na Figura 10 são continuidade da investigação da participação do sistema opióide utilizando-se um modelo específico para essa via, o modelo da placa quente. Os resultados obtidos demonstram que os animais tratados com morfina (5 mg/kg, s.c.) tiveram o seu limiar antinociceptivo aumentados quando analisados no teste da placa quente, entretanto o efeito antinociceptivo da quercetina não foi evidenciado no modelo corroborando com os resultados apresentados anteriormente.

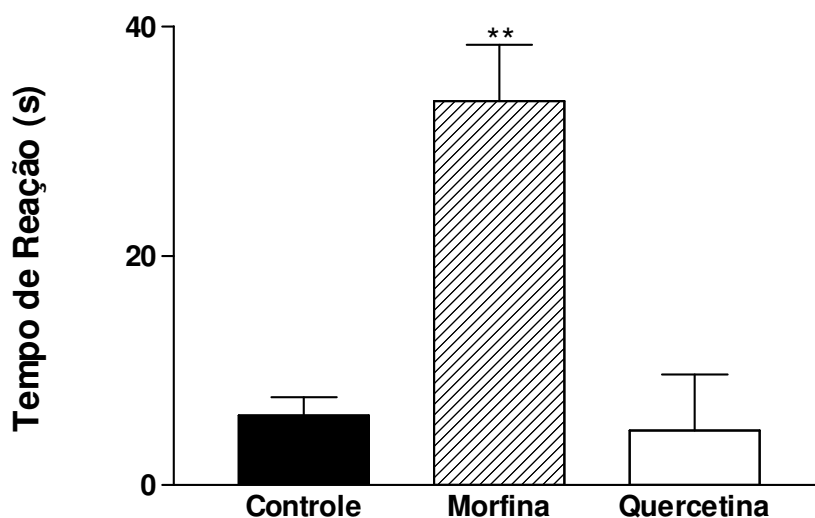


Figura 10 – Efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) e Morfina (5,0 mg/kg s.c.) no teste da placa quente. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. Difere significativamente do controle, ** $P < 0,01$.

O modelo da placa quente foi descrito inicialmente por Woolfe e Macdonald (2002) e posteriormente modificado por Eddy e Leimback (1953), sendo conhecido por ser bastante sensível para drogas que atuam em níveis centrais (CARTER, 1991).

Em estudos de *screening* farmacológico de compostos com propriedade antinociceptiva, a investigação do sistema opióide é uma constante. Um dos motivos principais para isso é o objetivo de se encontrar um produto com as propriedades farmacológicas da morfina, mas desprovido de efeitos adversos indesejáveis que limitam seu uso na terapêutica, principalmente no que diz respeito à tolerância e a dependência. (BLUMBERG et al. 1965, BENYHE, 1994).

As propriedades farmacológicas da morfina são inteiramente complexas e podem variar dependendo da dose, sítio de ação e via de administração. O efeito também depende da espécie animal na qual ela é utilizada. A mais relevante característica da morfina (analgesia) é antigüíssima, sendo o uso do ópio utilizado para esse fim, descrito em papiros e/ou pergaminhos que datam antes de Cristo. Sua ação é mediada via ativação de receptores de membrana chamados receptores opióides. Há, até o momento identificados vários tipos de receptores, mas três tipos

deles são os mais conhecidos, como por exemplo: μ , δ , e κ , sendo que os genes para a codificação desses receptores foram clonados (CHEN et. al., 1993; EVANS et. al. 1992, YASUDA et. al. 1993). Esses receptores são subdivididos em subtipos, sendo por exemplo o receptor μ , subdividido em μ_1 , μ_2 , μ_3 e μ_4 (DHAWAN et. al. 1996). Todos os receptores são metabotrópicos e quando ativados por opióides, inibem uma proteína G que ora inibe a atividade da adenilato ciclase e/ou canais de cálcio voltagem-dependente, ou, estimulam a condutância de K^+ (STONE et. al. 1997).

Ligantes opióides endógenos como as encefalinas, dimorfinas, endorfinas são liberadas constantemente no SNC participando na modulação do processo doloroso (STONE et. al., 1997). Os receptores opióides estão localizados em vários pontos das vias transmissoras do processo doloroso, como por exemplo, o corno dorsal medular, cérebro medial (mesencéfalo), tálamo e fibras nervosas periféricas. Sendo assim, a ativação desses receptores tem sido associada com analgesia espinal, supraespinal e analgesia periférica (FURST. 1999, WOOLFE e MAC DONALD, 2002). A analgesia produzida pela morfina é antagonizada por antagonistas dos receptores μ , mas não por antagonistas δ sugerindo que esse efeito é receptor μ -específico (SUH e TSENG, 1990). Esse dado foi confirmado pela genética molecular em estudos com animais nocauteados para esse receptor que, quando tratados com morfina exibiam nocicepção (MATTHES et. al. 1996) frente a um estímulo doloroso.

Com relação a esse sistema, nossos resultados mostraram que a naloxona (antagonista opióide não seletivo) reverteu o efeito antinociceptivo da morfina frente a nocicepção induzida por ácido acético, porém não reverteu o efeito antinociceptivo da quercetina, cujo resultado foi confirmado com o teste da placa quente. Confirmando a hipótese do não envolvimento do sistema opióide no mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva da quercetina.

5.5.2 Influência do sistema adrenérgico sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Com o objetivo de evidenciar a participação do sistema alfa (α)-adrenérgico sobre a atividade antinociceptiva da quercetina (10 mg/kg, i.p.), os animais foram pré-tratados com os antagonistas dos adrenoceptores do tipo α_1 (prazosin) ou α_2 (yoimbina) (0,15 mg/kg, i.p.) 15 min antes da administração da quercetina, fenilefrina

(agonista α_1 -adrenérgico) ou de clonidina (0,1 mg/kg, i.p., agonista α_1 -adrenérgico) (controles positivos). Após o período de tratamento dos animais com a quercetina ou com fármacos controles, foram analisadas as possíveis reversões do efeito antinociceptivo das mesmas em relação à nocicepção causada pelo ácido acético.

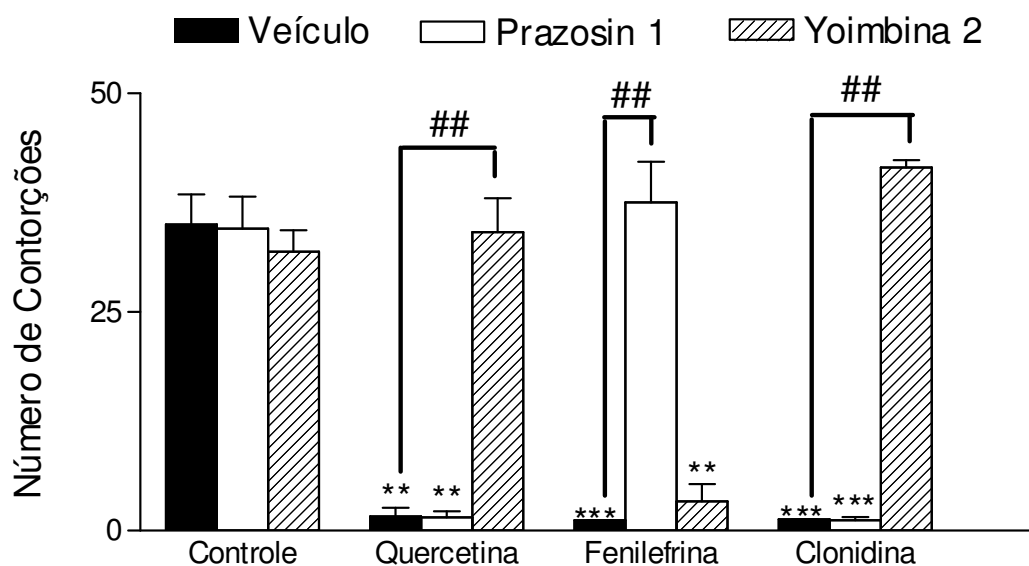


Figura 11 – Influência do pré-tratamento de camundongos com yoimbina (0,15 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.), fenilefrina (1 mg/kg, i.p.) ou clonidina (0,1 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0,001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com quercetina, fenilefrina ou clonidina

Analisando os resultados apresentados na Figura 11 verificou-se que o pré-tratamento dos animais com yoimbina reverteu completamente à ação antinociceptiva causada pela administração de clonidina e da quercetina, quando analisado em relação à dor induzida pelo ácido acético. Entretanto, não foi observado a reversão do efeito antinociceptivo da quercetina com o pré-tratamento do prazosin. Estes resultados nos indicam uma possível ação da quercetina através da via adrenérgica atuando em receptores α_2 .

Tem sido reportado que os agonistas α_1 e α_2 (fenilefrina e clonidina respectivamente) quando injetada sistemicamente, causaram um pronunciado efeito analgésico em vários modelos animais de dor (BUTELMAN e WOODS, 1998; FURST 1999, SANTOS et. al. 1998) e que, tais efeitos são seletivamente antagonizados pela administração sistêmica dos antagonistas dos receptores α_1 e α_2 , respectivamente. Umeda e colaboradores (1996) obtiveram evidências que a

liberação não simpática de noradrenalina (NOR) nas lâminas da substância gelatinosa do corno dorsal da medula é modulada via auto-receptores adrenérgicos do tipo α_{2A} . Eles observaram que o agonista clonidina aumentou a liberação de NOR em resposta a estimulação neural. Então, existe a possibilidade de que agonistas α_2 exercem seus efeitos antinociceptivos através da modulação pré-sináptica de fibras aferentes primárias que levam o impulso doloroso até o corno dorsal da medula (GUYENET et al. 1994). Uma vez que os receptores α_{2A} estão predominantemente alojados no corno dorsal da medula, tal fato pode ter importância prática e teórica para o entendimento dos mecanismos que controlam a nocicepção. Em dores mediadas simpaticamente, a clonidina pode também estar atuando pré-sinápticamente para inibir a atividade simpática. Além disso, também é sabido que os receptores adrenérgicos α_2 são localizados em proximidade a receptores opióides no SNC. Ainda foi reportado, que a clonidina libera β -endorfinas e é usada em anestesia geral para a redução da quantidade de determinados anestésicos melhorando (e muito) as condições clínicas do paciente durante e após as cirurgias (SEGAL et al. 1991; FLACKE e FLACKE; 1993, SAWYNOK, REID e POON, 1998). No presente estudo, nossos resultados confirmam e corroboram com os resultados anteriores sobre o efeito antinociceptivo da clonidina. Verificou-se que a yimbina reverteu completamente a ação antinociceptiva da clonidina e da quercetina, sugerindo que o sistema adrenérgico pode estar também envolvido com a sua propriedade antinociceptiva. Entretanto, estudos posteriores são necessários para confirmar se o efeito seria mediado especificamente pela ativação dos receptores α_2 ou, se estaria ocorrendo alguma interação entre o sistema adrenérgico e outros sistemas envolvidos no controle da nocicepção.

5.5.3 Influência do Sistema Serotonérgico sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

A fim de evidenciar a participação do sistema serotonérgico sobre a atividade antinociceptiva da quercetina, grupos de animais foram pré-tratados com p-clorofenilalanina (PCPA, 100 mg/kg, i.p.), inibidor da síntese de serotonina, por 4 dias consecutivos, metilsergida (antagonista serotonérgico não seletivo), e cetanserina (antagonista 5 HT₂) 15 min antes da administração da quercetina. Após o período de tratamento dos animais, foi analisada a possível reversão do efeito

antinociceptivo da quercetina em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

Os resultados apresentados na figura 12 mostram que o pré-tratamento com o PCPA reverteu significativamente a ação antinociceptiva da quercetina em relação à dor causada pelo ácido acético. Da mesma forma, o pré-tratamento com metilsergida e cetanserina (figura 12 A e B) reverteram o efeito antinociceptivo da quercetina, sugerindo que tal efeito pode estar envolvendo o sistema serotoninérgico, ora mediando a liberação da 5- HT, ora, atuando em receptores específicos do neurotransmissor.

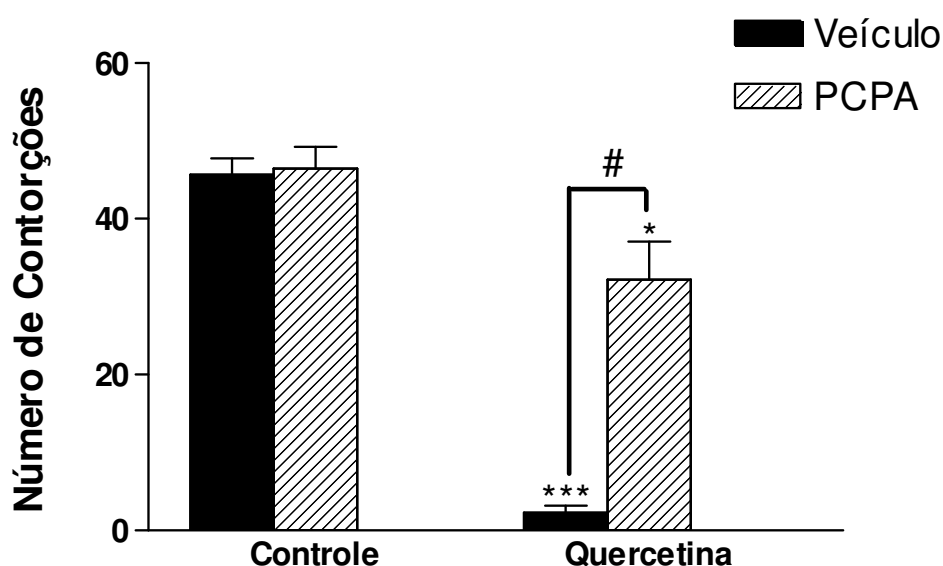


Figura 12 – Influência do pré-tratamento de camundongos com PCPA (100 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0.001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. # $P < 0,05$ quando comparado com o grupo tratado com quercetina na ausência de PCPA.

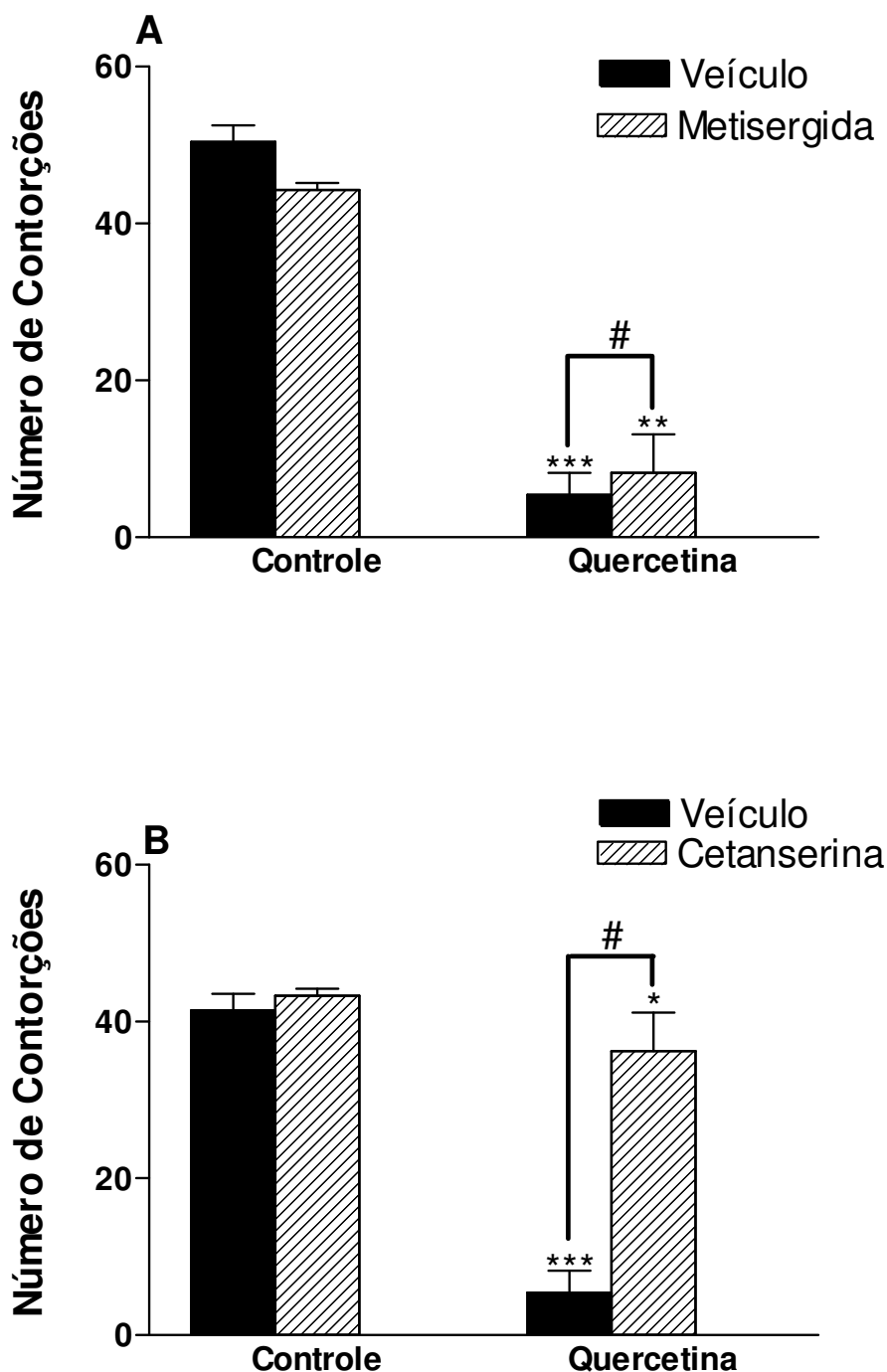


Figura 13 – Influência do pré-tratamento de camundongos com Metisergida (A) e Cetanserina (B) sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. # $P < 0,05$ ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com quercetina na ausência de metisergida ou cetanserina.

A 5HT foi primeiramente identificada no trato gastrointestinal e subsequencialmente no SNC. Os corpos celulares dos neurônios serotoninérgicos são concentrados no núcleo mediano da rafe (NMR) no mesencéfalo e tais neurônios projetam-se por várias regiões mesencefálicas e também para a medula (MILLAN, 2002). Vários trabalhos têm mostrado que a 5HT é também co-estocada em neurônios e células cromafins com peptídeos e hormônios dentre eles destacam-se: a SP, a somatostatina, o polipeptídeo vasoativo (VIP) e muitos outros (ROBBERS, 1997).

No SNC, neurônios 5-HT estão envolvidos na transmissão nociceptiva como também na inibição da dor induzida por agonistas opióides, uma vez que ocorre aumento da liberação deste neurotransmissor quando a morfina é injetada dentro da substância Cinzenta Periaquedutal. A 5-HT também inibe a transmissão dolorosa quando esta trafega pelo corno dorsal da medula sendo que esse efeito é, em parte, mediado por receptores 5-HT₂, embora o efeito dominante seja atribuído aos receptores 5-HT₁. Os receptores 5-HT₂ influenciam a resposta antinociceptiva da 5-HT no sistema inibitório descendente (SAWYNOK e REID, 1996).

Dependendo do tipo de receptor serotoninérgico ativado, a 5-HT não somente elicia ações antinociceptivas como também nociceptivas (MILLAN et al. 1999). Tem sido mostrado que a ativação de receptores espinais do tipo 5-HT_{1A} produz efeito pró-nociceptivo, enquanto que a ativação de receptores 5-HT_{1B} e 5-HT₃ produzem antinocicepção que pode ser precedida por respostas pró-nociceptivas (SAWYNOK e REID, 1996).

Dentre o grande número de fármacos utilizados no tratamento das dores crônicas, têm se destacado os antidepressivos tricíclicos (ATCs) (VENTAFRIDDA et al., 1990; MILLAN, 1999). Alguns estudos sugerem que esse efeito pode estar relacionado com a melhora do humor (ALMAY et al. 1987), outros estudos sugerem que eles produzem analgesia por mecanismos mais específicos (ANSUATEGUI et al 1991; BESSON 1999). Os ATCs são conhecidos tradicionalmente por estimular a atividade da 5-HT e da NOR através do bloqueio da recaptação neuronal (STAHL, 1998). Além disso, eles não parecem agir especificamente nos neurônios monoaminérgicos, como também em outros sistemas neuroquímicos justificando, portanto, a manifestação da resposta analgésica em pacientes não deprimidos (LEIJON e BOVINE 1989). Também em animais, os ATCs inibem significativamente a ação antinociceptiva (ACTON, MEKENNA e MEILZACK, 1992; ESSER e SAWYNOK,

1999; SAWYNOK e REID, 2001). É sugerido que tal efeito possa se processar com interação com o sistema opióide endógeno, uma vez que os ATCs potencializam a resposta antinociceptiva induzida por agonistas opióides (VALVERDE et. al. 1994). Tal efeito pode ser evidenciado quando animais são tratados com PCPA (inibidor da síntese de 5HT), que é capaz de antagonizar parte do efeito antinociceptivo mediado pela morfina e alguns AINES (BEIRITH et. al. 1998).

No presente estudo demonstramos que o pré-tratamento dos animais com PCPA durante quatro dias consecutivos reverteu o efeito antinociceptivo da quercetina, sugerindo que o composto pode atuar por mecanismos dependentes de liberação endógena de 5HT. Além disso tanto o pré-tratamento com a metilsergida (antagonista não seletivo da 5HT) como com a cetanserina (antagonista 5-HT₂) reverteram o efeito antinociceptivo da quercetina, reforçando a hipótese de que o sistema serotoninérgico está envolvido com o mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva da quercetina.

5.5.4 Influência do Sistema Dopaminérgico sobre a antinociceção mediada pela quercetina

Os resultados apresentados na figura 14 mostram que o pré-tratamento dos animais com haloperidol (antagonista dopaminérgico não seletivo) causou redução, de forma significativa, do efeito antinociceptivo induzido pela apomorfina (agonista dopaminérgico), sem alterar a resposta da quercetina, quando analisado a nociceção induzida pelo ácido acético em camundongos. Uma vez que os sistemas serotoninérgico, noradrenérgico e dopaminérgico possuem vias neuronais muito próximas e, percorrendo praticamente os mesmos pontos do SNC, sugeriu-se que as ações modulatórias das três aminas fossem praticamente similares (HOLSTEGE et. al. 1996).

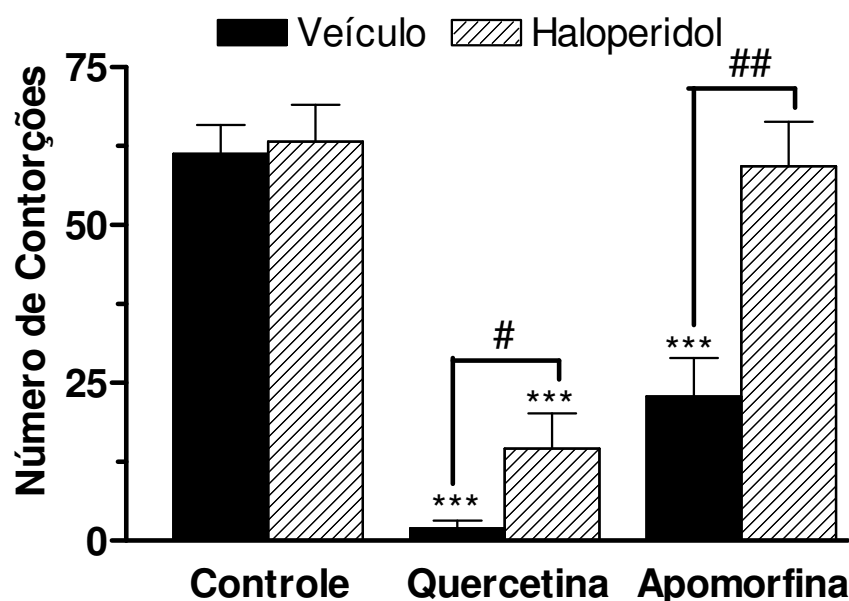


Figura 14 – Influência do pré-tratamento de camundongos com haloperidol sobre o efeito antinociceptivo causado pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0.001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. # $P < 0,05$ ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com quercetina ou apomorfina na ausência de haloperidol.

No que diz respeito ao processo doloroso, é possível que esses sistemas de neurotransmissores atuem nos mesmos sítios espinais. De fato, a neurotransmissão monoaminérgica descendente inibe a informação nociceptiva em neurônios por ativação de receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, α_2 adrenérgico e D₂- dopaminérgico (PERTOVAARA 1993; KIRITSY – ROY, 1994; ZEMLAN, 1994) os quais são negativamente acoplados a adenilato ciclase. Mais recentemente, Garraway e Hochman (2001) mostraram através de um trabalho, utilizando a técnica de 2 *pach-clamp* que embora haja distintas subpopulações de neurônios, a transmissão monoaminérgica bulbo-espinal pode atuar em diferentes sítios celulares para alterar as propriedades sensoriais e integrativas no que se diz respeito ao controle da dor. Os autores sugerem que para as três aminas (DOPA, 5-HT e NOR) a modulação não é a mesma havendo algumas diferenças, principalmente no que diz respeito ao tipo de dor elucidada.

Com relação aos resultados apresentados, o bloqueio dos receptores D₂ pelo haloperidol, antes do tratamento com a quercetina, provocou a reversão de seu efeito antinociceptivo, da mesma forma que reverteu o efeito da apomorfina. Os

nossos resultados, sobre os efeitos da quercetina no sistema dopaminérgico, serotoninérgico e adrenérgico reforçam a hipótese de uma ação inibitória descendente desses neurotransmissores no processo doloroso, ao mesmo tempo em que sugerem que tais sistemas estejam envolvidos no mecanismo de ação da propriedade antinociceptiva da quercetina

5.5.5 Influência dos glicocorticóides Endógenos sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Muitos estudos demonstram que o eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HPA) está envolvido no controle da dor e na inflamação (MILLAN, 1999). Flower e colaboradores (1986) observaram que a resposta inflamatória induzida pela carragenina é reduzida em ratos adrenalectomizados, em relação aos falso-operados, quando compararam a exsudação e a migração celular. A quantidade de eicosanóides, tromboxanos e leucotrienos produzida pela ativação das fosfolipases nos exsudatos inflamatórios também diminuíram significativamente a resposta dolorosa.

Com o objetivo de evidenciar a participação dos glicocorticóides endógenos na atividade antinociceptiva da quercetina, os animais foram anestesiados com tiopental, (40mg/kg, ip) para a retirada das glândulas adrenais através de uma incisão na região dorsal do animal como descrito anteriormente por Santos et al. (1995).

Os resultados apresentados na figura 15 mostram que a adrenalectomia bilateral dos animais promoveu uma reversão significativa do efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg, i.p.), quando analisado em relação a nocicepção causada pelo ácido acético e comparado com os animais *sham* (falso-operados). Estes resultados indicam que o eixo HPA, eixo este, relacionado no controle da dor e da inflamação, parece ser importante para o efeito antinociceptivo da quercetina. De fato, tem sido demonstrado que estímulos estressantes que ativam o eixo HPA e liberam glicocorticóides (principalmente corticosterona) podem reduzir a resposta nociceptiva e aumentar o limiar nociceptivo, condição esta relacionada a analgesia induzida pelo estresse. Além disso, tem sido demonstrado que os glicocorticóides podem reduzir a inflamação e são normalmente utilizados clinicamente para tratar a dor presente nos pacientes portadores de artrite reumatóides (TAYLOR et al., 1998).

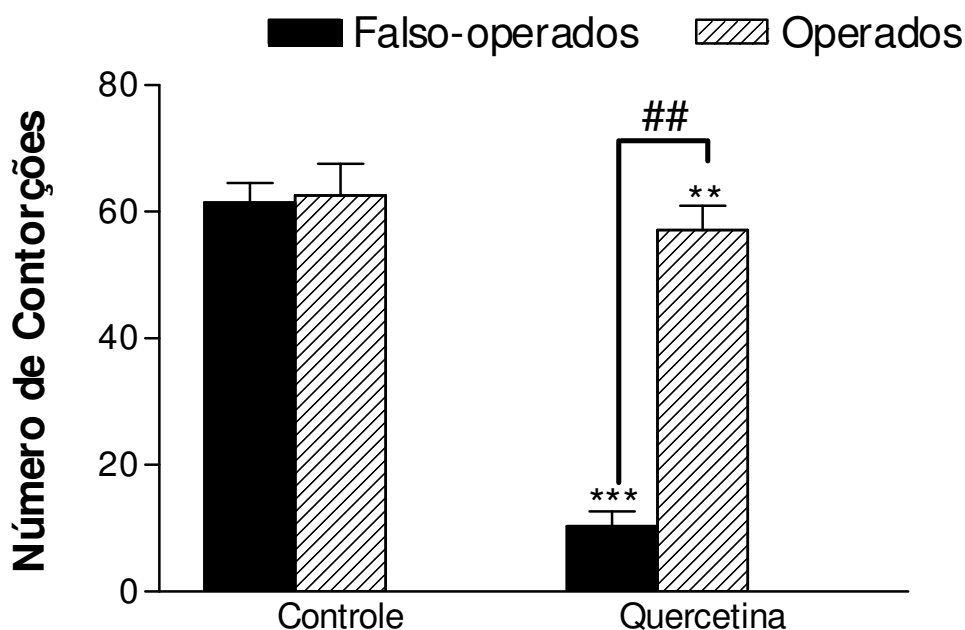


Figura 15 – Influência da adrenalectomia bilateral dos camundongos na antinocicepção causada pela Quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6 – 8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0,001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo falso-operados e tratado com quercetina.

5.5.6 Influência Do Sistema Oxido Nitrérgico sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Para evidenciar uma possível participação do sistema óxido nítrico-L-arginina sobre a atividade antinociceptiva da quercetina, grupos de animais foram pré-tratados com L-arginina (precursor de óxido nítrico), D-arginina (isômero inativo) e quercetina 15 min antes da administração de L-NOARG (inibidor da síntese de óxido nítrico). Após o período de tratamento dos animais com L-NOARG, foi analisada a possível reversão do efeito antinociceptivo das diferentes drogas em relação a nocicepção causada pelo ácido acético como descrito anteriormente.

Os resultados apresentados na Figura 16, com relação ao efeito antinociceptivo da quercetina envolvendo o sistema oxidonitrérgico nos mostraram que a L-arginina (precursor do óxido nítrico) porém não reverteu o efeito antinociceptivo da L-NOARG (inibidor da síntese de NO) porém não reverteu o efeito da quercetina, sugerindo desta forma, o não envolvimento deste sistema no seu mecanismo de ação. Da mesma forma a D-arginina (isômero inativo da L-arginina) não influenciou a resposta antinociceptiva da quercetina.

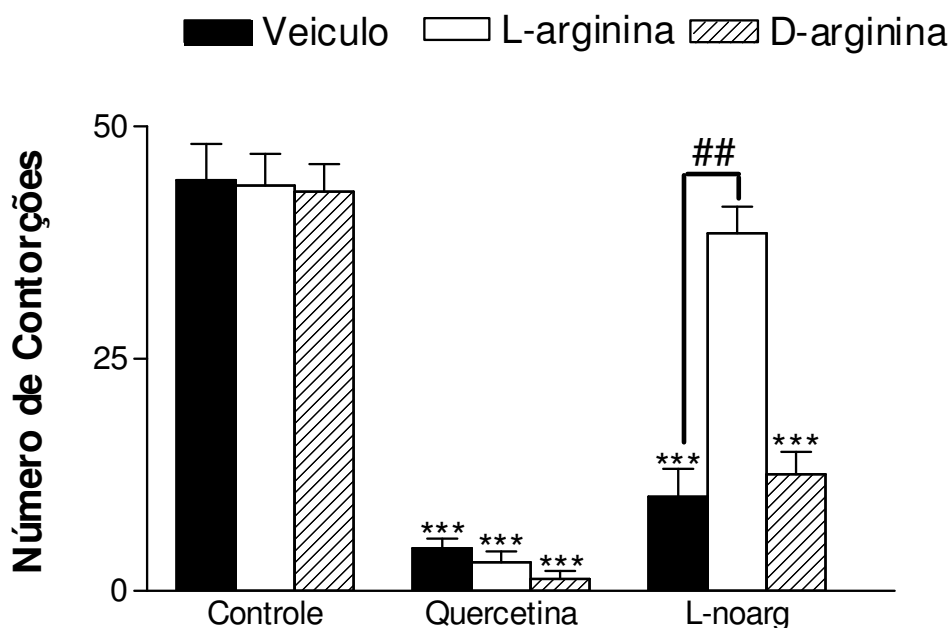


Figura 16 – Influência do pré-tratamento de camundongos com L-arginina (600 mg/kg, i.p.) ou com D-arginina (600 mg/kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg, i.p.) em relação a nocicepção induzida pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6-8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0.001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com inibidor da síntese de NO (L-NOARG e quercetina) na presença L-arginina.

Em vários nervos periféricos, no corno dorsal da medula e possivelmente em outras partes do SNC, o NO pode ser formado pré-sinápticamente e atuar como um neurotransmissor do tipo NANC (não adrenérgico e não colinérgico). Além de outros efeitos, o NO tem sido implicado no controle do desenvolvimento neural e na plasticidade sináptica no SNC, como também no controle do apetite. Recentemente achados tem mostrado que o NO é produzido enzimaticamente em estruturas pós-sinápticas, também em resposta a ativação de receptores de aminoácidos excitatórios (KITTO et al. 1992). O óxido nítrico (NO) pode iniciar a liberação pré-sináptica de glutamato funcionando como mensageiro retrógrado que é sintetizado em sítios pós-sinápticos como consequência da abertura de canais de Ca^{+} e ativação da NO-sintase. A formação de NO em resposta a ativação dos receptores NMDA justifica a hipótese de que o NO pode também atuar como um mediador dos efeitos nociceptivos induzidos por NMDA (BJORKMAN 1995; GARTHWAITE 1991; FURST 1995). A participação do NO na percepção de dor foi também observada, porque a inibição de sua síntese resultou na diminuição da resposta nociceptiva. (HALEY et al., 1992; FERREIRA et al., 1999).

Tem sido sugerido que a via L-arginina-óxido nítrico exerce um papel importante na nocicepção. Moore e colaboradores (1991) demonstraram que a L-N⁶-nitro-arginina-metil-ester (inibidor da óxido-nítrico sintase) administrada central e periféricamente, causou um pronunciado efeito antinociceptivo em relação a ambas as fases da dor induzidas pela formalina, assim como no modelo do *Tail-flick* e na placa quente (YAKSH e RUDY 1977;). Além disso, o mesmo autor demonstrou que o composto causou inibição da hiperalgesia induzida por agonistas dos receptores NMDA. Também é relatado que ocorre a depressão do processo nociceptivo em ratos e redução da resposta nociceptiva em neurônios dorsais da medula após estimulação mecânica e térmica, nos animais pré-tratados com L-NOARG (CODERRE e YASHPAL, 1994; SANTOS et. al. 1995).

Os resultados obtidos no presente estudo confirmam essas observações e demonstram que a administração sistêmica de L-NOARG, antagonizou de forma bastante pronunciada a dor induzida por ácido acético, sendo tal efeito seletivamente revertido pela injeção de L-arginina. O mesmo tratamento dos animais com L-arginina foi incapaz de reverter o efeito antinociceptivo da quercetina, sugerindo desta forma que a via L-arginina-óxido nítrico parece não estar envolvida no efeito antinociceptivo do composto no modelo do ácido acético.

5.5.7 Influência Do Sistema Gabaérgico sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Os resultados apresentados na Figura 17 mostram que o pré-tratamento dos animais com bicuculina (antagonista GABA_A) ou faclofeno (antagonista GABA_B) reverteu significativamente o efeito antinociceptivo causado pelo baclofeno, (agonista seletivo dos receptores GABA_A) e pelo muscinol (agonista seletivo dos receptores GABA_B). Em grupos de animais que foram tratados com os antagonistas dos respectivos receptores e, posteriormente com a quercetina, observou-se a reversão da resposta antinociceptiva da quercetina, sugerindo que seu efeito no processo doloroso poderia estar sendo mediado via sistema GABAérgico.

Assim como a excitação neuronal mediada por aminoácidos excitatórios como o glutamato, promovem nocicepção, o sistema de aminoácidos inibitórios o qual o ácido γ -aminobutírico (GABA) é o principal representante, produz efeito contrário, ou seja, antinocicepção (FURST, 1999). Os neurônios GABAérgicos formam sinapses

axo-axônicas com terminais sensoriais primários e são responsáveis pela inibição pré-sináptica. Este aminoácido (o GABA) está envolvido no processo doloroso, como modulador em vias que conduzem a informação dolorosa da periferia ao SNC e sua concentração no corno dorsal da medula é bastante elevada. (HAUBRICH et al., 1984; MILLAN, 1999). Vários trabalhos tem confirmado o efeito antinociceptivo de agonistas GABAérgicos em modelos animais de dor (SAWYNOK, 1984; SANTOS, 1998). Nossos resultados confirmam e corroboram com os resultados da literatura uma vez que o baclofeno e o muscimol, foram efetivos em diminuir a nocicepção induzida por ácido acético, tendo seus efeitos antagonizados respectivamente por faclofeno e bicuculina (antagonistas seletivos GABA_A e GABA_B). Além disso, nossos resultados demonstram que a via GABAérgica é importante no efeito antinociceptivo da quercetina.

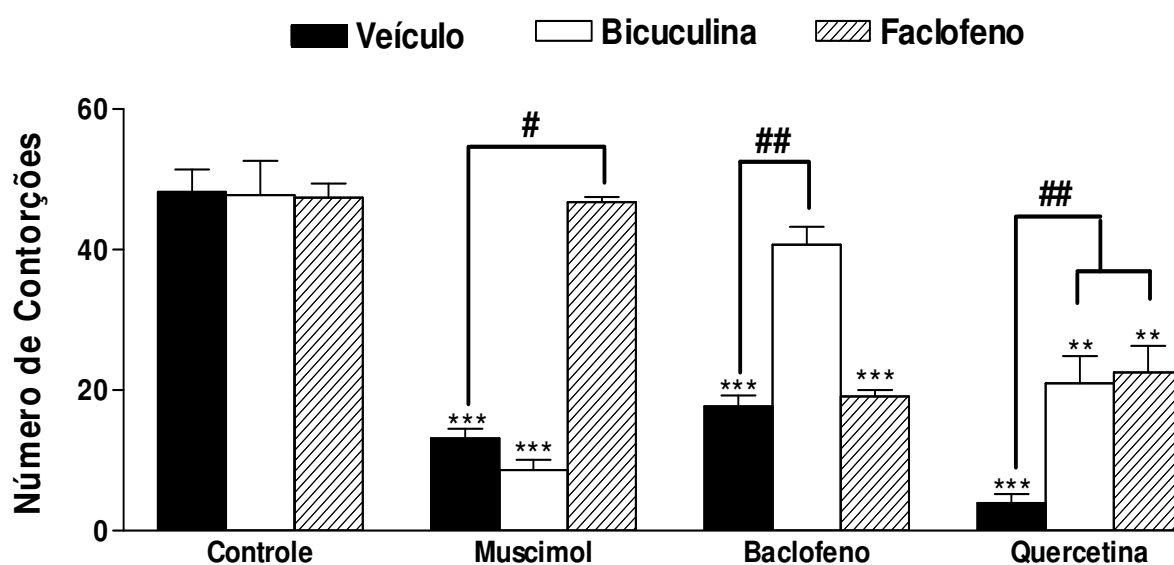


Figura 17 – Influência do pré-tratamento de camundongos com bicuculina (0,7 mg/kg), faclofeno (3 mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg), muscimol (1 mg/kg) ou baclofeno (1mg/kg) em relação a nocicepção causada pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6-8 animais e as linhas verticais os E.P.M. *** $P < 0,001$ denotam diferenças significativas quando comparados respectivamente ao controle. ## $P < 0,01$ quando comparado com o grupo tratado com Muscimol, Baclofeno e quercetina, na presença de Bicuculina ou Faclofeno.

5.5.8 Influência Do Sistema Colinérgico sobre a antinocicepção mediada pela quercetina

Finalmente com o objetivo de evidenciar a participação do sistema colinérgico sobre a atividade antinociceptiva da quercetina, os grupos de animais foram pré-tratados com o antagonista colinérgico não seletivo atropina (10 mg/kg, i.p.) 15 min antes da administração da quercetina e da acetilcolina (ACh/ 1.0 mg/kg). Decorridos 30 minutos do tratamento dos animais com a quercetina e a ACh, foram analisadas as possíveis reversões do efeito antinociceptivo das mesmas, em relação a nocicepção causada pelo ácido acético.

Conforme nos mostra a figura 18 o pré-tratamento com atropina reverteu a ação antinociceptiva da ACh, não revertendo porém o efeito da quercetina, quando analisado na dor induzida por ácido acético.

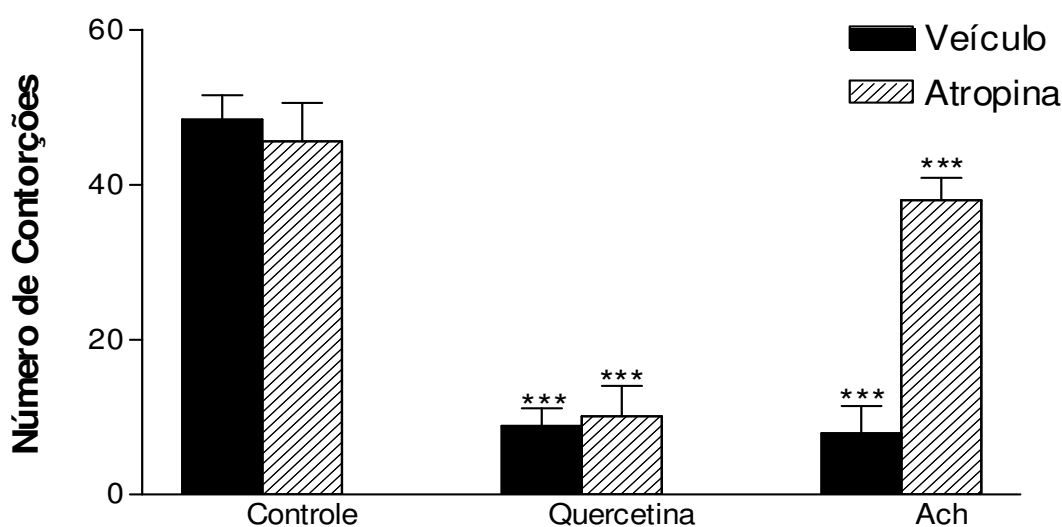


Figura 18 – Influência do pré-tratamento de camundongos com Atropina (mg/kg) sobre o efeito antinociceptivo causado pela quercetina (10 mg/kg), em relação a nocicepção causada pelo ácido acético. Cada grupo representa a média de 6-8 animais e as linhas verticais os E.P.M. * denota a diferença significativa quando comparados respectivamente ao controle e/ou quercetina/veículo / ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$.

Vários estudos tem mostrado o papel do sistema colinérgico na nocicepção e no mecanismo de ação de opióides. Os vários tipos de receptores opióides pré-sinápticos induzem a liberação de acetilcolina, dependendo das ligações nervosas (HERZ, A., 1993). Muitos trabalhos sugerem que a ACh exibe efeito antinociceptivo e, que pode atuar através de várias vias monoaminérgicas. A possibilidade de que essas vias possam mediar a resposta da ACh no processo doloroso é sugerida pelo

fato de que o aumento do limiar nociceptivo medido através do teste do *Tail Flick* quando aplicado em camundongos pré-tratados com agentes colinomiméticos (agonistas colinérgicos), é marcadamente atenuado pela transsecção espinal dos animais. Isso sugere que a ACh desempenha um papel de modelador do processo doloroso participando do processo de inibição descendente (JAIN, 2004; DECKER, RUETER & BITNER, 2004).

Paradoxalmente, muitos trabalhos com animais também demonstram que o bloqueio do sistema colinérgico pode resultar em um efeito antinociceptivo. (DEWEY et al 1969; HAUBRICH, et al. 1984; BANNON et al. 1998;) sugerindo então que os antagonistas colinérgicos poderiam então exibir efeito antinociceptivo.

Com relação aos resultados apresentados no presente trabalho, confirmamos o efeito alérgico do antagonista não seletivo atropina, bloqueando a ação antinociceptiva da ACh no modelo de dor induzida por ácido acético. Entretanto, a atropina é um antagonista não seletivo de receptores nicotínicos da ACh, desta forma, estudos posteriores serão necessários para eventualmente esclarecer o real papel da ACh no processo doloroso. Em se tratando da influência do sistema colinérgico sobre a ação antinociceptiva da quercetina, nossos resultados sugerem que o sistema citado não participa do efeito antinociceptivo desse flavonóide.

CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo mostram, claramente, que a quercetina apresenta importante ação antinociceptiva, tanto administrada por via intraperitoneal ou oralmente, em vários modelos de dor em camundongos, especialmente em relação à dor induzida pela formalina, capsaicina e glutamato. Entre seus principais efeitos, destaca-se sua marcada e prolongada ação antinociceptiva quando administrada pela via intraperitoneal na dor induzida por ácido acético.

A quercetina produz antinocicepção por envolver a ativação dos sistemas serotoninérgico, dopaminérgico, e $\alpha 2$ - adrenérgico de forma direta, atuando em receptores específicos de tais sistemas. Por outro lado, parece haver uma integração dos efeitos antinociceptivos do composto com os sistemas de taquicinas, glutamatérgicos e glicocorticoides endógenos.

Foi demonstrado ainda, que o efeito antinociceptivo parece não envolver os sistemas opióides, oxidonitrérgico e colinérgico.

Comparando o efeito da quercetina com fármacos analgésicos tradicionais, verificou-se que o composto é 3 a 4 vezes mais potente do que a aspirina e o paracetamol no modelo de dor induzida por ácido acético.

REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

ACTON, J.; MCKENNA, J.E.; MELZACK, R. Amitriptyline produces analgesia in the formalin pain test. **Exp Neurol.**, v.117, n.1, p.94-96, Jul. 1992.

ALMAY, B. G. L.; HAGGENDAL, J.; VON KNORRING, L.; ORLEAND, L. 5-HIAA and HVA in CSF in patients with idiopathic pain disorders. **Biol. Psychiat.**, v.22, p.403-412, 1987.

ANSUATEGUI, M.; NAHARRO, L.; FERIA, M. Noradrenergic and opioidergic influences on the antinociceptive effect of clomipramine in the formalin. **Pain**, v.45, p.3-9, 1991.

BANNON, A. W.; DECKER, M. W.; HOLLODAY, M. W.; CRUZON, P.; DONNELLY-ROBERTS, D.; PUTTFARCKEN, P. S.; BITTNER, R. S.; DIAZ, A.; DICKENSTEIN, A. H.; PORSOLT, R. D.; WILLIAMS, M.; ARNERIC, S. P. Broad spectrum, non opioid analgesic activity by selective modulation of neural nicotinic acetylcholine receptors. **Science**, v.279, p.77-81, 1998.

BARUCH, A. Efficient and Reliable Broadcast is Achievable in an Eventually Connected Network. **Shimon Even**, 1984, p.278-281.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.; RODRIGUES, A.L.; CRECZYNSKI-PASA, T.B.; CALIXTO, J.B. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. **Eur. J. Pharmacol.**, v.345, n.3, p.233-245, Mar. 1998.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J. B. Mechanism underlying the nociception and paw oedema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain. Res.**, v.924, p.219-228, 2002.

BENAVENTE-GARCIA et al. Uses and properties of citrus flavonoids. **J. Agric. Food Chem**, v. 45, p. 4505-4015, 1997.

BENYHE, S. Morphine: new aspects in the study of an ancient compound. **Life Sci.**, v.55, p.969- 979, 1994.

BENTLEY, G. A.; NEWTON, S. H.; STARR, J. Evidence for an action of morphine and enkephalin on sensory nerve endings in the mouse peritoneum. **Br. J. Pharmacol.**, v. 73, p. 325-333, 1981.

BESSON M. E CHAUD Ch. A., Periferal and spinal mechanism of nociception. **Physiol.**, v.67, p.167-186, 1997.

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

BELTRAGE, M.; SOLIEVI, A.; SEGERDAHL, M.; SJOLUND, K-F.; HANSSON, P. Systemic adenosine infusion alleviates spontaneous and evoked pain in patients with periferal neuropatic pain. **Anesth Analg.**, v.81, p.713-717, 1995.

BITTAR, O. J. Process management and health quality certification **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.46, n.1, p.70-66, 2000.

BJORKMAN, R. Central antinociceptive effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat., **Rev. Acta Anaesthesiol Scand Suppl**, v.103, p.1-44, 1995

BLANE, G. F. Blokada of bradikinin induced nociception in the rat as a test for analgesic drugs with particular reference to morphine antagonists. **J. Pharmacol.**, v.19, p.367-373, 1967.

BLOCK, L. C.; SANTOS A. R. S.; SOUZA, M. M., et al. Chemical and pharmacological examination of *Wedelia paludosa*. **J. Ethnopharmacol**, v.61, p.85-89, 1998.

BLUMBERG, H.; WOLF, P. S.; DAYTON, H. B. Use of the writhing test for evaluating analgesic activity of narcotic antagonists. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.118, p.763-766, 1965.

BRUNETON, J. Flavonoides. In: **Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales**. Segunda Edicion. Espanha: Acribia S.A., 2001, p.305-341.

BOADI, W. Y.; IYERE, P. A.; ADUNYAH, S. E. Effect of quercetin and genistein on copper-and iron-induced peroxidation in methyl linolenate. **J. Appl. Toxicol.**, v.23, p.363-369, 2003.

BONACINA, F.; PACCHIANO F. Complementary activity of anthocyanosides in a preparation with anti-edema and capillary-protective activity. **Boll. Chim. Farm.**, v.113, n.10, p.540-550, Oct., 1974.

BORRELLI, F.; IZZO, A. A. The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer remedies. **Phyther. Res.**, v.14, p.581-591. 2000.

BUTELMAN, E. R.; KO, M.C.; SOBCZYK-KOJIRO K.; HENRY, M. I.; BEMMEL, B. V.; ZERNIG, G.; WOODS, J. H. *Kappa*-Opioid Receptor Binding Populations in Rhesus Monkey Relationship to an Assay of Thermal Antinociception. **Brain**, v.285, Issue 2, p.595-601, May 1998.

CALIXTO, J. B.; BEIRITH, A.; FERREIRA, J.; SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Naturally-occurring antinociceptive substances from plants: a review. **Phyther. Res**, v.14, p.1-18, 2000.

CALIXTO, J. B. Desenvolvimento de medicamentos: Ensaios pré-clínicos. **Médicos**, p. 22-25, set./out. 1998.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.33, p.179-189, 2000.

CALIXTO, J. B.; SCHEIDT, C.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. S. Biological activity of plant extracts: Novel analgesic drugs. **Expert Opinion Emerging Drugs.**, v.6, n.2, p.261-279, 2001.

CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Santa Catarina. Chapecó: Argos, 2001, p.521.

CAMPOS, M.S.; MARTINEZ-LARREA, J.A. Affective disorders: analysis of their comorbidity in the more frequent psychiatric disorders. **An Sist Sanit Navar.**, 25 Suppl, v.3, p.117-136, 2002.

CAO, Y. Q.; MANTYH, P. W.; CARLSON, E. J.; GILLESPIE, A. M.; EPSTEIN, C. J.; BASBAUM, A. I. Primary efferent tachykinins are required to experience moderate to intense pain. **Nature**, v.392, p.390-394, 1998.

CARLINI, E.A. Plants and the central nervous system. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.75, n.3, p.501-512, Jun. 2003.

CARR, D.B.; GOUDAS, L.C. Acute pain. **Lancet.**, v.353, n.9169, p.2051-2058, 1999.

CARTER, R. B. Differentiating analgesic and non-analgesic drug activities on rat hot plate: effect of behavioral endpoint. **Pain**, v.47, p.211-220, 1991.

CATERINA, M.J.; LEFFLER, A.; MALMBERG, A.B.; MARTIN, W.J.; TRAFTON, J.; PETERSEN-ZEITZ, K.R.; KOLTZENBURG, M.; BASBAUM, A.I.; JULIUS, D. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. **Science.**, v.14, n.64, p.306-313, 2000.

CAVALCANTI, I. L.; MADDALENA, M. L. **Dor. Saerj**, p.299, 2003.

CECHINEL FILHO, V.; WILLAIN FILHO, A.; BREVIGLIERI, E. Estudo fitoquímico e avaliação preliminar da atividade analgésica de *Bauhinia splendens*. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 76, p. 115-117, 1995.

CECHINEL-FILHO, V.; SANTOS, A. R.; DE CAMPOS, R. O.; MIGUEL, O. G.; YUNES, R. A.; FERRARI, F.; MESSANA, I.; CALIXTO, J. B. Chemical and pharmacological studies of *Phyllanthus caroliniensis* in mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.48, n.12, p.1231-1236, Dec. 1996.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre a modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998.

CECHINEL-FILHO, V.; VAZ, Z. R.; ZUNINO, L.; CALIXTO, J. B.; YUNES, R. A. Antinociceptive and anti-oedematogenic properties of astilbin, taxifolin and some related compounds, **Drug Res.**, v.3, p.281-285, 2000.

CHEN, Y.; MASTEK, A.; LIU, J.; HURLEY, J.; YU, L. Molecular cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain. **MOL Pharmacol**, v.44, p.8-12. 1993.

CHIANG, L.C.; CHIANG, W.; LIU, M.C.; LIN, C.C. In vitro antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. **J. Antimicrob. Chemother.**, v.52, n.2, p.194-198, Aug. 2003.

CHO, S. Y.; PARK, S. J.; KWON, M. J. et al. Quercetin supresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-Kappa B pathway in lipopolysacaride-stimulated macrophage. **Mol. Cell Biochem**, v.243, p.153-160, 2003.

CODERRE, T.J.; YASHPAL, K. Intracellular messengers contributing to persistent nociception and hyperalgesia induced by L-glutamate and substance P in the rat formalin pain model., **Eur. J. Neurosci.**, v.6, n.8, p.1328-1334, Aug 1994.

COLLIER, H. D. J.; DINNIN L. C.; JOHNSON C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal response and its supression by analgesic drugs in the mouse. **Br. J. Pharmacol.**, v.32, p.295-310, 1968.

COLLIS, M.G.; HOURANI, S.M. Adenosine receptor subtypes. **Trends Pharmacol Sci.**, v.14, n.10, p.360-366, Oct. 1993.

COLDIRAN, A. D. Jr.; SANDERS, R. A.; WATKINS J. B. Effects combinad quercetin and coenzyme Q(10) treatment oxidative stress in normal and diabetic rats. **J. Biochem Mol Toxicol.**, v.4, p.197-202, 2002.

CORRÊA, C. R.; CALIXTO, J. B. Evidence for participation of b1 and b2 kinin receptors in formaline-induced nociceptive response in the mouse. **Br. J. Pharmacol.**, v.110, p.193-198, 1993.

CORRÊA, C. R.; KYLE, D. J.; CHAKRAVARTY, S.; CALIXTO, J. B. **Br. J. Pharmacol.**, n.117, p.552-558, 1996.

CROSBY, G.; MAROTA, J. J. A.; HUANG, P. L. Intact nociception-induced neuroplasticity in transgenic mice deficient in neural nitric oxid synthase. **Neuroscience**, v.69, p.1013-1017, 1995.

DAJAS, F.; RIVERA-MEGRET F.; BLASINA F. et al. Neuroprotection by flavonoids. **Braz J Med Biol Res.**, v.36, n.12, p.1613-1620, 2003.

DA SILVA, R. R.; DE OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. S.; ALBINO, L. F.; DE ALMEIDA, M. R.; DE MORAES, G. H.; PINTO, J. G. Hypocholesterolemic effect of naringin and rutin flavonoids. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v.51, n.3, p.258-264, Sep 2001.

DE-CAMPOS, R. O.; ALVES, R. V.; FERREIRA, J.; KYLE, D.J.; CHAKRAVARTY, S.; MAVUNKEL, B.J.; CALIXTO, J. B. Oral antinociception and oedema inhibition produced by NPC 18884, a non-peptidic bradykinin B2 receptor antagonist. **Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.**, v.360, n.3, p.278-286, 1999.

DECKER, M. W.; RUTER, L. E.; BITNER, R. S. Nicotinic acetylcholine receptor agonists: a potential new class analgesics. **Curr. Top Med. Chem.**, v.4, n.3, p.369-384, 2004.

DE FELIPE, C.; HERRERO, J. F.; O'BRIEN, J. A.; PALMER, J. A.; DOYLE, C. A.; SMITH, A. J. H.; LAIRD, J. M. A.; BELMONTE, C., CERVERO, F.; HUNT, S. P. Altered nociception, analgesia and aggression in mice lacking the receptor for substance P. **Nature**, v.392, p.394-397, 1998.

De SMET, P. G. A. M. The role of plant-derived drugs and herbal medicines in health care. **Drugs**, v.54, p.801-840, 1997.

DE-SOUZA, M. M.; KERN, P.; FLORIANI, A. E. O AND CECHINEL-FILHO V., Analgesic Properties of a N-hydroalcoholic extract obtained from *Alternanthera brasiliana*., **Phytoter Res**, v.12, p. 279-281, 1998.

DE-SOUZA, M. M.; CORRÊA, R.; CECHINEL-FILHO, V.; GRABECHEV, I.; BOJINOV, V. 4-Nitro-1,8-naphthalimides exhibit antinociceptive properties. **Pharmazie**, v.56, n.6, p.430-431, 2002.

DEWEY, W. L.; SNYDER, J. W.; HARRIS, L. S.; HOWES, J. F. The effects of narcotics and narcotics antagonists on the tail flick response in spinal mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.21, p.548-555, 1969.

De WIEL A.; GOLDE, P. H. M. Hart H. Ch. Blessings of the grape. **Eur. J. Internal Med.**, v.12, p.484-489, 2001.

DHAWAN, B. N.; CESSELIN, F.; RAGHUBIR, R. International union of pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. **Pharmacol., Rev.** v.48, p.567-591, 1996.

DIMOPOULOS, M. A.; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU, V. Adverse effects of thalidomide administration in patients with neoplastic diseases. **Am. J. Med.**, v.117, n.7, p.508-515, 2004.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v.4, p.161-174, 1977.

DOK-GO, H.; LEE, K. H.; KIM H. J.; LEE E. E. H.; LEE J.; SONG Y. S.; LEE Y. H.; JIN C. Y. S. CHO J. Neuroprotective effects of antioxidative flavonoids, quercetin, dihydroquercetin and quercetin 3-methyl ether, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. saboten. **Brain Res.**, v.965; p.130-136, 2003.

DRAY, A.; PATEL, I. A.; PERKINS, M. N.; RUEFF, A. Bradykinin-induced activation of nociceptors: receptor and mechanistic studies on the neonatal rat spinal cord-tail preparation in vitro. **Br J Pharmacol.**, v.107, n.4, p.1129-1134, 1992.

DRAY A.; URBAN L. New pharmacological strategies for pain relief. **Annu Rev Pharmacol Toxicol.**, v.36, p.253-280, 1996.

DRAY A. e PERKINS; In handbook of Experimental Pharmacology: The Pharmacology of Pain. **Springer:** Heidelberg, v.21-41, 1997

DRUGS. **The American Journal of Medicine**, v.104, 1998.

DUBUISSON, D.; DENNIS, S. G. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain**, v.4, p.161-174, 1977.

EDDY, N. B.; LEIMBARCK, D. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v.107, p.385-393, 1953.

ELISABETSKY, E. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFSC/URGS, p.87-99, 1999.

ELISABETSKY, E.; WANNMCHER, L. The status of ethnopharmacology in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, v.38, p.137-143, 1993.

EMIM, J. A.; OLIVEIRA A. B.; LAPA A. J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. **J. Pharmacol.**, v.46, p.118-122, 1994.

ESSER M. J.; SAWYNOK J. Acute amitriptyline in rat model of neuropathic pain: differential symptom and route effects. **Pain.**, v.80, n.3, p.643-653, 1999.

EVANS, C.; KEITH, Jr. D; MORRISON, H.; MAGENDZO, K.; EDWARDS, R. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. **Science**, v.258, p.1952-1955, 1992.

FARNSWORTH, N. R.; BINGEL, A. S. In: **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity**. Springer: New York, p.61-73, 1997.

FARNSWORTH, W. E. Figuring out why we breathe. **Med Hypotheses**. v.48, p.229-36, 1997.

FERREIRA, S. H. I.; BARATA, L. E.; SALLES, S. L. M. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. RJ, **Acad. Bras. Ciênc.**, v.33-34, 1998.

FERREIRA, E. I. Como nascem e se desenvolvem os novos medicamentos. In: **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p.198.

FERREIRA, J. **Caracterização do efeito hiperalgésico induzido pelas injeções intratecais de glutamato e cininas em camundongos**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2000.

FRANCESCA, B.; ANGELO, A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytother. Res.**, v.14, p.581-591, 2000.

FLACKE, J. W.; FLACKE, W. E. The use of α_2 -adrenergic agonists during general anaesthesia. **Anaesth. Pharmacol. Rev.**, n.1, p.268-283. 1993.

FLOWER, R. J.; ROTHWELL, N. J. A comparison of the acute inflammatory response in adrenalectomised and sham-operated rats. **Br. J. Pharmacol.**, v.87, p.57-62, 1986.

FORMICA, J.V.; REGELSON, W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. **Food Chem Toxicol.**, v.33, n.12, p.1061-1080, 1995.

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

FURST, D. E. Innovative treatment approaches for rheumatoid arthritis. Cyclosporin, leflunomide and nitrogen mustard. **Baillieres Clin Rheumatol.**, v.9, n.4, p.711-729, Nov. 1995

GAMSE, R.; HOLZER, P.; LEMBECK, F. Indirect evidence for presynaptic location of opiate receptors on chemosensitive primary sensory neurones. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.**, v.308, n.3, p.281-285, 1979.

GAMSE, R.; LACKNER, D.; GAMSE, G.; LEEMAN, S. E. Effect of capsaicin pretreatment on capsaicin-evoked release of immunoreactive somatostatin and substance P from primary afferent neurons. **Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.**, v.361, p.38-41, 1981.

GARRAWAY, S. M.; HOCHMAN S. Modulatory actions of serotonin, norepinephrine, dopamine, and acetylcholine in spinal cord deep dorsal horn neurons. **J Neurophysiol.**, v.86, n.5, p.2183-2194, Nov. 2001.

GARCIA, F. Z.; GONZÁLEZ T. I. M.; SANTAMARÍA O. L. Flavonoides y fitoterapia. **Revista de Fitoterapia.**, v.2, n.1, p.21-32, 2002.

GARTHWAITE J. Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. **Trends Neurosci.**, v.14, n.2, p.60-77, 1991.

GASPARIN F. R. et al. Actions of quercetin on gluconeogenesis and glycolysis in rat. **Xenobiótica.**, v.9, p.903-911, 2003.

GEISSMAN, T. S.; HINREIER, C. D. In: De WIEL A., Golde P. H. M., Hart H. Ch. Blessings of the grape. **Eur. J. Int. Med.**, v.12, p.484-489, 2001.

- GOMATHI K. et al. Quercetin incorporated collagen matrices for dermal wound healing processes in rat. **Biomaterials**, v.16, p. 2767-2772, 2003.
- GOUTMAN J. D.; WAXEMBERG, M. D.; DONATE-OLIVER, F.; POMATA, P.E.; CALVO, D.J. Flavonoid modulation of ionic currents mediated by GABA (A) and GABA (C) receptors. **Eur. J. Pharmacol.**, v.14, p.79-87, 2003.
- GRAEFE, E. U.; DERENDORF, H.; VEIT, M. Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans. **Int. J. Clin. Pharmacol Ther.**, v.37, n.5, p.219-233, 1999.
- GRUBB, B. D. Peripheral and central mechanisms of pain. **Br. J. Anaesth.** v.81; p.8-11, 1998.
- GUYENET, P. G.; STORNETTA, R. L.; RILEY, T.; NORTON, F. R.; ROSIN, D. L.; LYNCH, K. R. A_{2A}-adrenergic receptors are present in lower brainstem catecholaminergic and serotonergic neurons innervating spinal cord. **Brain Res.** v.638, p.285-294. 1994.
- HALEY J. E.; DICKENSON A. H.; SCHACHTER M. Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat. **Neuropharmacology.**, v.31, n.3, p.251-258, Mar. 1992.
- HARBONE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. Chapman & Hall. In The Flavonoids. London: Chapman & Hall, p 376, 1975.
- HA H. J.; KWON Y. S.; PARK S. M.; SHIN T. Quercetin attenuates oxygen-glucose deprivation-and excitot induced neurotoxicity in primary cortical cell cultures. **Biol. Pharm. Bull.**, v.26, p.544-546, 2003.
- HAUBRICH, D. R.; BAIZMAN, E. R.; MORGAN, B. A.; SELENS, J. K. The role of endogenous nonendorphin substances in nociception. In: KUHAR, M.; PASTERNAK, G. Eds. Analgesics: Neurochemical behavioral and clinical perspectives. **New York:** Raven Press., p.195-234, 1984.
- HEAPY, C. G.; JAMIESON, A.; RUSSELL, N. J. W. Afferent C-fibre and A delta activity in models of inflammation. **Brit. J. Pharmacol.**, v.90, p.164, 1987.
- HERTOG, M. G.; FESKENS, E. J.; HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B.; KROMHOUT, D. Dietary flavonoids and cancer risk in the Zutphen elderly stud. **Nutr. Cancer.**, v.22, p.175-184, 1994.
- HERZ, A. **Opioids I-II**. Berlin: Springer Verlag, 1993.
- HOLZER, P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, selectivity for thin sensory neurons. **Pharmacol. Rev.**, v.43, p.143-201, 1991.
- HOLSTEGE J. C.; VAN DUKEN, H.; BUUS, R. M.; GOEDKNEGT, H.; GOZNES T.; BONGERS, C. M. H. Distribution of dopamine immunoreactivity in the rat, cat, and monkey spinal cord. **J. Comp Neurol.**, v.376, p.631-652, 1996.

HOROWITZ, R. M.; GENTILI, B. Flavonoid constituents of *Citrus*. In: S. Nagy, P. E. Shaw. VELDHUIS, M.K. **Citrus Science and Technology**, v.1, p.397-426. 1977.

HSIU, S. L.; HOU, Y. C.; WANG, Y. H.; TSAO, C. W.; SU, S. F.; CHAO, P. D. Quercetin significantly decreased cyclosporin oral bioavailability in pigs and rats. **Life Sci.**, v.72, n.3, p.227-235, Dec. 2002.

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

JAIN, K. D. Modulators of nicotinic acetylcholine receptors as analgesics. **Curr. Opin. Investig Drugs.**, v.5, n.1, 76-78, 2004.

JANCSÓ, G.; KIRALY, E.; JANCSÓ-GABOR, A. Immunohistochemical studies on the effects of capsaicin on spinal and medullary peptide and monoamine neurons using antisera to substance P, gastrin CCK, somatostatin, VIP, enkefalin, neurotensin and 5-HT. **J. Neurocytol.**, v.10, p.963-980, 1981.

JENSEN, T. S.; YAKSH, T. L. The antinociceptive activity of excitatory amino acids in the rat brainstem: an anatomical and pharmacological analysis. **Brain Res.**, v.569, n.2, p.255-267, 1992.

JONADET, M. et al. Anthocyanosides extracted from *Vitis vinifera*, *Vaccinium myrtillus*, and *Pinus maritimus*. I. Elastase-inhibiting activities in vitro. II. Compared angiopro-protective activities in vivo. **J. Pharm. Belg.**, v.38, p.41-46, 1983.

KANEUCHI, M.; SASAKI, M.; TANAKA, Y.; SAKURAGI, N.; FUJIMOTO, S.; DAHIYA, B. Quercetin regulates grow of ishikawa cells through the suppression of EGF and cyclin D1. **Int. J. Oncol.**, v.22, n.1, p.159-164, 2003.

KAHRAMAN, A.; ERKASAP, N.; KOKEN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v.183, n.1-3, p.133-42. Feb. 2003.

KAHRAMAN, A.; ERKASAP, N.; SERTESER, M.; KOKEN, T. Protective effect of quercetin on renal ischemia/reperfusion injury in rats. **J. Nephrol.** v.16, n.2, p.219-224, Mar./Apr. 2003.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, v.18, p.412, 1959.

KATSKE, F.; SHOSKES, D. A.; SENDER, M.; POLIAKIN, R.; GAGLIANO, K.; RAJFER, J. Treatment of interstitial cystitis with a quercetin supplement. **Tech Urol.**, v.7, n.1, p.44-46, Mar. 2001.

KESSLER, M.; UBEAUD, G.; JUNG L. Anti-and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.55, n.1, p.131-142, 2003.

KIRITSY-ROY, J. A. Spinal atinociception mediate by a cacaine-sensitive dopaminergic supraspinal mechanism. **Brain Res.**, v.644, p.109-116, 1994.

KONIG, M.; ZIMMER, A. M.; STEINER, H.; HOLMES, P. V.; CRAWLEY, J. N.; BROWNSTEIN, M. J.; ZIMMER, A. Pain responses, anxiety and aggression in mice deficient in pre-proenkephalin. **Nature**, v.383, p.535-538, 1996.

KITTO, K.F.; HALEY, J.E.; WILCOX, G.L. Involvement of nitric oxide in spinally mediated hyperalgesia in the mouse. **Neurosci Lett.**, v.148, n.1-2, p.1-5. 1992.

KUMAR, P.; SHARMA, S.; KHANNA, M.; RAJ, H. G. Effect of quercetin on lipid peroxidation and changes in lung morphology in experimental influenza virus infection. **Int. J. Exp. Pathol.** v.84, n.3, p.127-133, 2003.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; GODINHO, R. O.; DE LIMA, T.C.M. Farmacología e toxicología de produtos naturais. *In: Farmacognosia: da Planta ao Medicamento.* Porto Alegre: Universidade/UFRG, 1999, p.181-196.

LEE, E. S.; LEE, H. E.; SNHIN, J. Y.; YOON, S.; MOON, J. O. The flavonoid quercetin inhibits dimethylmitrosamine-induced damage in rats. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.8, p.1169-1174, 2003.

LEIJON, G.; BOVIE, J. Central post-stroke pain: a controlled trial of amitriptyline and carbamazepine. **Pain**, v.36, p.27-36, 1989.

LIESVELD, J. L.; ABOUD, C. N.; LU, C.; MCNAIR, C.; MENON, A. Flavonoid effects on normal and leukemic cells. **Leuk Res.**, v.27, p.517-527, 2003.

LIN, S. Y.; TSAI, S. J.; WANG, L. H.; WU, M. F.; LEE, H. Protection by quercetin against cooking oil fumes-induced DM damage in human lung adenocarcinoma CL-3 cells: role of C. **Nutr. Cancer.** v.44, p.95-101, 2002.

LOPEZ-VELEZ M., MARTINEZ-MARTINEZ F., DEL VALLE-RIBES C., The study of phenolic compounds as natural antioxidants in vitro. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.43, p.233-244, 2003.

LOPEZ-LOZARO M. Flavonoids as anticancer agents: structure-activity relationship study. **Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents.** v.2, p.691-714, 2002.

LOSER, J.D.; MELZACK R. Pain: an overview. **Lancet.**, v.353, p.1607-1609, 1999.

LUK'ANCHUK V. D., SAVCHENKOVA L. V., The effect of quercetin on the metabolic processes in combin body exposure to hypoxia and hyperthermia. **Eksp. Klin. Farmakol.** v.56, p.44-47, 1993.

LUZZI, R.; SCHEIDT, C.; ROOS, J. F.; CECHINEL FILHO, V.; SANTOS, A.R.; CALIXTO, J.B.; YUNES, R.A.; NIERO, R. Antinociceptive activity of a hydroalcoholic extract obtained from aerial parts of *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae). **Pharmazie.**, v.55, n.9, p.681-683, Sep. 2000.

MACEDO, V. Indeterminate form of Chagas disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Suppl 1**, p.311-316, 1999.

MALMBERG, A. B.; YAKSH, T. L. Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E₂ and amino acids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in unanesthetized rats. **J. Neurosci.**, v.15, p.2768-2776, 1995.

MALMBERG, A. B.; BRANDON, E. P.; IDZERDA, R. L.; LIU, H.; MACKNIGHT, G. S.; BASBAUM, A. L. Diminished inflammation and nociceptive pain with preservation of neuropathic pain in mice with a targeted mutation of the Type I regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase. **J. Neurosci.**, v.17, p.7462-7470, 1997.

MANGEET K. R.; GROSH B. Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in murine macrophages. **Int. J. Immunopharmacol.** v.21, p.435-443. 1999.

MATTHES H. W.; MALDONADO, R.; SIMONIN, F.; VALVERDE, O.; SLOWE, S.; KITCHEN, I.; BEFORT, K.; DIERICH, A.; LE MEUR, M.; DOLLE, P.; TZAVARA, E.; HANOUNE, J.; ROQUES, B. P.; KIEFFER, B. L. Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene. **Nature. Oct.**, v.31, n.383, p.819-823, 1996.

MELZACK R. Pain-an overview. **Acta Anaesthesiol Scand.** v.43, n.9, p.880-884, 1999.

MENDELSON, R.; BALICK, M. The value of undiscovered pharmaceutical in tropical forest. **Econ. Bot.**, v.49, p.223-228, 1995.

MERSKEY, H.; BOGDUK, N. Classification of chronic pain: description of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. **IASP Press**, Seattle, 1994.

MILLAN, M. J. The induction of pain: an integrative review. **Prog. Neurobiol.** v.57, p.160-164, 1999.

_____. Descending control of pain. **Prog. Neurobiol.**, v.569, p.100-120, 2002.

MOORE, P. K.; OLUYOMI, A. O.; BABBEDGE, R. C.; WALLACE, P.; HART, S. L. L-N^G-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. **Br. J. Pharmacol.**, v.102, p.198-202, 1991.

MOLINA, M. F.; SANCHEZ-REUS I.; IGLESIAS, I.; BENEDI J. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. **Biol. Pharm. Bull.**, v.26, p.398-402, 2003.

MUROTA, K.; TERRAO, J. Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism. **Arch. Biochem. Biophys.** v.417, p.12-17, 2003.

NAIDU, P. S.; SINGH A.; KULKARNI S. K. Quercetin, a bioflavonoid, attenuates haloperidol-induced dyskinesia. **Neuropharmacology.** v.44, p.1100-1106. 2003.

NAIR, M.P.; KANDASWAMI, C.; MAHAJAN, S.; CHADHA, K.C.; CHAWDA, R.; NAIR, H.; KUMAR, N.; NAIR, R.E.; SCHWARTZ, S.A. The flavonoid, quercetin, differentially regulates Th-1 (IFN γ) and Th-2 (IL4) cytokine gene expression by normal peripheral blood mononuclear cells. **Biochim Biophys Acta.** v.16, p.1593, p.29-36, Dec. 2002.

NIERO, R.; CECHINEL FILHO, V; SOUZA, M.M.; MONTANARI, J.L.; YUNES, R.A.; DELLE MONACHE, F. Antinociceptive activity of niga-ichigoside F1 from *Rubus imperialis*. **J. Nat. Prod.**, v.62, v.8, p.1145-1146. Aug. 1999.

NIERO, Obtenção de novas moléculas com atividade analgésica e antiinflamatória a partir de plantas medicinais brasileiras. **Tese de doutorado.** UFSC, Florianópolis – SC, 2000.

NIKOLIC, J.; CVETKOVIC, T.; SOKOLOVIC, D. Role of quercetin on hepatic urea production in acute renal failure. **Ren Fail.**, v.25, n.2, p.149-55, Mar. 2003.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM., Toxicology and Carcinogenesis Studies of Quercetin (CAS No. 117-39-5) in F344 Rats (Feed Studies). **Natl Toxicol Program.**, Tech Rep Ser. P.171,1992.

OLSZ-ANECKI A.; GEBSKA, A.; KOZLOVSKI, V. I.; GRYGLEWSKI, R. J. FLAVONOIDS AND NITRIC oxide synthase. **J. Fyysiol. Pharmacol.**, v.53, n.4, p.571-584, 2002.

ONO, K.; YOSHIKE, Y.; TAKASHIMA, A.; HASEGAWA, K.; NAIKI, H.; YAMADA, M. Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. **Neurochem.**, v.87, p.172-181, 2003.

OSIECKI, H. The role of chronic inflammation in cardiovascular disease and its regulation by nutrients. **Altern. Med. Rev.** v.9, p.1, p.32-53. 2004.

PATIL, C. S.; SINGH, V. P.; SATYANARAYAN, P. S.; JAIN, N. K.; SINGH, A. KULKARNI, S. K. Protective effect of flavonoids against aging and lipopolysaccharide-induced cognitive impairment in mice. **Pharmacology**, v.69, p.59-67, 2003.

PAVANATO, A.; TUNON, M.J.; SANCHEZ-CAMPOS, S.; MARRONI, C.A.; LLESUY, S.; GONZALEZ-GALLEGO, J.; MARRONI, N. Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. **Dig. Dis. Sci.**, v.48, n.4, p.824-829, 2003.

PERTOVA, A. Antinociception induced by alpha-2-adrenoceptor agonists, with special emphasis on medetomidine studie. **Prog. Neurobiol.** v.40, p.691-709, 1993.

PESQUERO, J.; ALFARO, V.; PALACIOS, L. Acid-base analysis during experimental anemia in rats. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v.78, n.10, p.774-80, 2000.

PICP, M.; CHEAV, S. L.; PRIGENT, A. F. Effect of two flavonoids on central nervous system analgesic avtivit. **Life Sci.** v.26, p.1979-1988, 1991.

PIETRUCK, F.; KUHLMANN, M. K.; LANGE, B.; FELDKAMP, T.; HERGET-ROSENTHAL, S.; RAUEN, U.; BURKHARDT, G.; KOHLER, H.; PHILIPP, T.; KRIBBEN, A. Effect of quercetin on hypoxic injury in freshly isolated rat proximal tubules. **J. Lab. Clin. Med.**, v.142, n.2, p.106-112, Aug. 2003.

PLAPER, A.; GOLOB, M.; HAFNER, I.; OBLAK, M.; SOLMAJER, T.; JERALA, R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.306, n.2, p.530-536, 2003.

POTAPOVICH, A. I.; KOSTYUK, V. A. Comparative study of antioxidant properties and cytoprotect activity of flavonoids. **Biochemistry (Mosol)**, v.68, p.514-519, 2003.

QI, L. H. et al. Antifibrotic effects of genistein and quercetin in vitro. **Yao Xue Xue Bao**. v.9, p.648-651, 2001.

RANG, H. P.; URBAN, L. New molecules in analgesia. **Br. J. Anaesth.**, v.75, p.145-156, 1995.

RANG H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Pharmacology**. Third Edition: 1995.

RIBEIRO, R. A.; VALE, M. L.; THOMAZZI, S. M.; PASCHOALATO A. B.; POOLE S.; FERREIRA S. H.; CUNHA F. Q. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **Eur. J. Pharmacol.** v.387, n.1, p.111-118, Jan. 2000.

ROBERTS, C.; WATSON, J.; BURTON, M.; PRICE, G. W.; JONES, B. J. Functional characterization of the 5-HT terminal autoreceptor in the guinea-pig brain cortex. **Br. J. Pharmacol.**, v.117, n.2, p.384-388. 1996.

ROMERO, J.; MARAK, G. E.; RAO, N. A. Pharmacologic modulation of acute ocular inflammation with quercetin. **Ophthalmic Res.** v.21, n.2, p.112-117, 1989.

ROHRDANZ, E.; BITTNER, A.; TRAN-THI, Q. H.; KAHL R. The effect of quercetin on the mRNA expression of different antioxidant enzymes in hepatoma cell. **Arch. Toxicol.**, v.77, p.506-551. 2003.

ROTELLI, E. T. A. E.; GUARDIA, T.; JUAREZ, A. O.; DE LA ROCHA, N. E.; PELZER, L. E. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. **Pharmacol. Res.**, v.48, p.601-606, 2003.

RYLSKI, M.; DURIASZ-ROWINSKA, H.; REWERSKI, W. The analgesic action of some flavonoids in the hot plate test. **Acta Physiol. Pol.**, v.30, n.3, p.385-8, 1979.

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

RUSZNYAK, SZENT-GYORGI. IN: GARCÍA, Z. F., GONZALEZ, T. I. M., SANTAMARÍA, O. L. Flavonoides y fitoterapia. **Revista de Fitoterapia**. v.2, n.1, p.21-32, 2002.

SAKURADA, T.; KATSUMATA, K.; TAN-NO, K.; SAKURADA, S.; KISARA, K. T. The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonists in the spinal cord. **Neuropharmacol**, v.31, n.12, p.1279-1285, 1992.

SAKURADA, T.; SUGIYAMA, A.; SAKURADA, C.; TANNO, K.; SAKURADA, S.; KISARA, K.; HARA, A.; ABIKO, Y. Involvement of nitric oxide in spinally mediated capsaicin- and glutamate-induced behavioural responses in the mouse. **Neurochem Int.**, v.29, n.3, p.271-278, 1996.

SALGUEIRO, J. B.; ARDENGHI, P.; DIAS, M.; FERREIRA, M. B.; IZQUIERDO, I.; MEDINA. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v.58, p.887-891, 1997.

SAMANTHA, C.; ANN, F. W. P.; GEORGE T. L. Flavonoids – A New Direction for the Treatment of Fluid Retention? **Phytother. Res.**, v.15, p.467-475, 2001.

SANDRA, M.; GARRAWAY, Shawn Hochman. Modulatory Actions of Serotonin, Norepinephrine, Dopamine. Acetylcholine in Spinal Cord deep Dorsal Horn Neurons. **J. Neurophysiol.**, v.86, p.2183–2194, 2001.

SANTOS, A. R. S.; CECHINEL FILHO, V.; NIERO R.; PIZZOLATTI M. G.; DELLE MONACHE F.; YUNES R. A.; CALIXTO J. B. **Planta Med.** v.61, p.329-332, 1995.

SANTOS, A. R.; CALIXTO, J. B. Ruthenium red and capsazepine antinociceptive effect in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neurosci. Lett.**, v.235, n.1-2, p.73-76, 1997.

SANTOS A. R.; CALIXTO, J. B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides**, v.31, n.4, p.381-389, 1997b.

SANTOS, A. R. S.; VEDANA, E. M.; DE FREITAS, G. A. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. **Inflamm. Res.**, v.47, p.302-307, 1998.

SANTOS, A. R.; DE CAMPOS, R. O.; MIGUEL, O. G.; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. The involvement of K⁺ channels and Gi/o protein in the antinociceptive action of the gallic acid ethyl ester. **Eur J Pharmacol.**, v.379, n.1, p.7-17, 1999.

SANTOS, A. R. S. Análise dos mecanismos de ação antinociceptiva de princípios ativos isolados de plantas. **Tese de Doutorado.** Florianópolis-SC, 2000.

SARKAR, S.; MANDAL, S.; SINHA, J.; MUKHOPADHYAY, S.; DAS, N.; BASU, M. K.; Quercetin: critical evaluation as an antileishmanial agent in vivo hamsters using different vesicular delivery models. **Drug Target.**, v.10, n.8, p.573-578, 2002.

SAWYNOK J. GABAergic mechanisms in antinociception. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v.8, p.4-6, p.581-586, 1984.

SAWYNOK, J.; REID, A. caffeine antinociception: role of formalin concentration and adenosine A₁ and A₂ receptors. **Eur. J. Pharmacol**, v.317, p.1-11. 1996.

SAWYNOK, J.; REID A.; POON A. Peripheral antinociceptive effect of an adenosine kinase inhibitor, with augmentation by an adenosine deaminase inhibitor, in the rat formalin test. **Pain.**; v.74, n.1, p.75-81, 1998.

SAWYNOK, J.; REID, A. Antinociception by tricyclic antidepressants in the rat formalin test: differential effects on different behaviours following systemic and spinal administration. **Pain.**, v.93, n.1, p.51-59, 2001.

SEGAL, J. S.; JARVIS, D. J.; DUNCAN, S. R.; WHITE, P. F.; MAZE, M. Clinical efficacy of oral-transdermal clonidine combinations during perioperative period. **Anesthesiology**, v.74, p.220-225. 1991.

SEGUIN, L.; MAROULLE-GIRARDON, L.; MILLAN, M. J. Antinociceptive profiles of non-peptidergic neurokinin-1 and neurokinin-2 receptor antagonists, a comparison to other classes of antinociceptive agent. **Pain**, v.61, p.325-343, 1995.

SESSO, H.D.; GAZIANO, J.M.; LIU, S.; BURING, J.E. Flavonoid intake and the risk of cardiovascular disease in women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.77, n.6, p.1400-1408, Jun 2003.

SETCHELL, K. D. R.; CASSIDY A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. **J. Nutr.**, v.129, n.3, p.758-767, 1999.

SCHULTKE, E.; KENDALL, E.; KAMENCIC, H.; GHONG, Z.; GRIEBEL, R.W.; JUURLINK, B.H. Quercetin promotes functional recovery following acute spinal injury. **J. Neurotrauma.**, v.20, n.6, p.583-591, 2003.

SCHWARTZ A.; SUTTON S. L.; MIDDLETON E. JR. Quercetin inhibition of the induction and function of cytotoxic lymphocytes. **Immunopharmacology.**, v.4, p.125-138, 1982.

SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2001, p. 301-332.

SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response., **Pain**, v.38, n.3, p.347-52, 1989.

SHIMOI, K.; YOSHIZUMI, K.; KIDO, T.; USUI, Y.; YUMOTO, T. Absorption and urinary excretion of quercetin, rutin, and alphaG-rutin, a water soluble flavonoid, in rats. **J. Agric. Food Chem.**, v.51, n.9, p.2785-2789, Apr. 2003.

SHOSKES, D. A. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. **Transplantation.**, v.66, n.2, p.147-152, Jul. 1998.

SHOSKES, D. A.; ZEITLIN, S. I.; SHAHED, A.; RAIJFER, J. Quercetin in men category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. **Urol.**, v.54, n.6, p.960-963, 1999.

SIEGMUND, E.; CADMUS, R.; LU, G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.95, n.4, p.729-931, Aug./Sep. 1957.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: Editora da **Universidade UFRGS**, 1986.

SIMÕES, C. M. O.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. Farmacognosia: da Planta ao medicamento. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2001.

SINGH, A.; NAIDU, P.S.; KULKARNI, S. K. Quercetin potentiates L-Dopa reversal of drug-induced catalepsy in rats: possible COMT/MAO inhibition. **Pharmacology.**, v.68, n.2, p. 81-88, Jun. 2003.

STAHL, S.M. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. **J. Affect. Disord.**, v.51, n.3, p.215-235, 1998.

STONE, L. S.; FAIRBANKS, C. A.; LAUGHLIN, T. M. Spinal analgesic actions of the new endogenous opioid peptides endimorphin-1 and -2. **Neuroreport**, v.8, p.3131-3135, 1997.

SUH, H. H.; TSENG, L. F. Different types of opioid receptors mediating analgesia induced by morphine, DAMGO, DPDPE, DEDLE and β -endorphin in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, v.342, p.67-71, 1990.

SZALLASI, A.; BLUMBERG, P.M. Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. **Pharmacol Rev.**; v.51, n.2, p.159-212, 1999.

SZALLASI, A.; CONTE, B.; GOSO, C.; BLUMBERG, P.M.; MANZINI, S. Characterization of a peripheral vanilloid (capsaicin) receptor in the urinary bladder of the rat. **Life Sci.**, v.52, n.20, p.221-226, 1993.

SZOLCSANYI, J.; TAYLOR, D.C.; PIERAU, F.K. Capsaicin-induced inhibition of axoplasmic transport is prevented by nerve growth factor. **Cell Tissue Res**, v.240, p.569-573, 1985.

TAYLOR, B. K.; AKANA, S. F.; PETERSON, M. A.; DALLMAN, M. F.; BASBAUM, A. I. Pituitary-Adrenocortical Responses to Persistent Noxious Stimuli in the Awake Rat: Endogenous Corticosterone Does Not Reduce Nociception in the Formalin Test. **Endocrinology.**, v.139, p.2407-2413, 1998.

TAN, W. F.; LIN, L. P.; LI, M. H.; ZANG, Y. X.; TONG, Y. G.; XIAO, D.; DING, J. Quercetin, a dietary-derived flavonoid, posses antiangiogen potential. **Eur. J. Pharmacol.**, v.459, p.255-262, 2003.

TAKIZAWA, S.; FUKUYAMA, N.; HIRABAYASHI, H.; KOHARA, S.; KAZAHASRI, S.; SHINOHARA, Y.; NAKAZAWA, H. Quercetin, a natural flavonoid, attenuates vacuolar formation in the optic tract in rat chronic cerebral hypoperfusion model. **Brain Res.**, v.980, n.1, p.156-160, Aug. 2003.

THEOHARIDES, T. C.; ALEXANDRAKIS, M.; KEMPURAJ, D.; LY TINAS, M. Anti-inflammatory actions of flavonoids and structural requirements for new design. **Int. J. Immunopathol. Pharmacol.** v.14, n.3, p.119-127, Sep./Dec. 2001.

TJOLSEN, A.; HOLE, K. Animals models of analgesia. In: the pharmacology of pain (ed. Dickenson, A. And besson, J.-M.), **Springer**, Berlin, p.1-20, 1997.

UMEDA, E.; SATOH, T.; NAGASHIMA, H.; POTTER, P. A.; TARKOVACS, G.; VIZI, E. S. α_{2A} subtype of presynaptic α_2 -adrenoceptors modulates the release of [3 H]-noradrenaline from rat spinal cord. **Brain Res. Bull.**, v.43, p.129-132, 1996.

UHLEN, S.; PERSSON, M.L.; ALARI, L.; POST, C.; AXELSSON, K.L.; WIKBERG, J.E. Antinociceptive actions of alpha 2-adrenoceptor agonists in the rat spinal cord: evidence for antinociceptive alpha 2-adrenoceptor subtypes and dissociation of antinociceptive alpha 2-adrenoceptors from cyclic AMP. **J. Neurochem.**, v.55, n.6, p.1905-1914, Dec, 1990.

URBAN, M. O.; GEBHART, G. F. Central mechanisms in pain. **Med. Clin. North Am.**, v.83, n.3, p.585-596, 1999.

URCA, G.; RAIGORODSKY, G. Behavioral classification of excitatory amino acid receptors in mouse spinal cord. **Eur. J. Pharmacol.**, v.24, n.153, p.2-3, 211-220, 1988.

VALVERDE, O.; MICO, J. A.; MALDONADO, R.; MELLADO, M.; GIBERT-RAHOLA, J. Participation of opioid and monoaminergic mechanisms on the antinociceptive effect induced by tricyclic antidepressants in two behavioural pain tests in mice. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.**, v.18, n.6, p.1073-1092, Oct. 1994.

VANE, J. R.; BOTTING, J. H.; BOTTING, R. M. Improved Non-steroid Anti-inflammatory Drugs. COX-2 Enzyme Inhibitors. Kluwer Academic Publishers and **William Harvey Press, Lancaster und London**, p.203-228, 1995.

VANE, J. R.; BAKHLE, Y. S.; BOTTING, R. M. Cyclooxygenase 1 end 2. **Annu. Ver. Pharmacol. Toxicol.**, v.38, p.97-120, 1998.

VENTAFRIDDA, V.; BIANCHI, M.; RIPAMONTI, C.; SACERDOTE, P.; DE CONNO, F.; ZECCA, E.; PANERAI, A. E. Studies on the effects of antidepressant drugs on the antinociceptive action of morphine and on plasma morphine in rats and man. **Pain**, v.43, p.155-162, 1990.

VESSAL, M.; HEMMATI, M.; VASEI, M.; Antiidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. **Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.**, v.3, p.357-364, 2003.

VIETRI, M.; VAGLINI, F.; CANTINI, R.; PACIFICI, G. M. Quercetin inhibits the sulfatation of R(-)-apomorphine in human brain. **J. Clin. Pharmacol**, v.41, p.30-35, 2003.

VIOLA, H.; WOLFMAN, C.; LEVI DE STEIN, M.; WASOWSKI, C.; PENA, C.; MEDINA, J.H.; PALADINI, A.C. Isoation of pharmacologically active benzonidazepine receptor ligands from *Tilia tomentosa* (Tiliaceae). **J. Ethnopharmacol.** v.44, n.1, p.47-53, 1994.

VISWANATHAN, S. B.; SWAMBANTHAM, P. T.; REDDY, K.; KAMESWARAN, L. Gossypin-induced analgesia in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v.98, p.361-365, 1984.

WANG, P.; LIU, B.; OU, H.; TONG, L.; YANG, J.; TANG C. Nitric oxide synthase/nitric oxide pathway mediates intussusception pathogenesis in rats. **Chin. Med. J. (Engl)**., v.112, n.11, p.1016-1019, Nov. 1999.

WANG, H-K. The therapeutic potential of flavonoides. **Exp. Opin. Invet. Drugs**, v. 9, p. 2103-2119, 2000.

WHITTLE, B. A. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **Int. J. Neuropharmacol.**, v.32, p.369-378, Sep. 1964.

WOOD, J. N.; DOCHERTY, R. Chemical activators of sensory neurons. **Ann. Rev. Physiol.**, v.39, p.4942-4951, 1997.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). **J. Exp. Ther. Pharm.**, v.80, p.523-527, 2002.

YASUDA, K.; RAYNOR, K.; KONG, H. et. al. Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from Morse brain. **Proc Natl Acad Sci USA** **90**, p.6736-6740, 1993.

YAKSH, T. L. Pharmacology and mechanisms of opioid analgesic activity. **Acta Anaesthesiol. Scand.** v.41, p.94-111, Jan. 1997.

ZAHORODNYI, M. I. Effect of quercetin on sodium diclofenac-induced ulceration. **Lik Sprava.**, v.1, p.96-99, 2003.

ZIMMER, A.; ZIMMER, A. M.; BAFFI, J.; USDIN, T.; REYNOLDS, K.; KONIG, M.; PALKOVITS, M.; MEZEY, E. Hypoalgesia in mice with a targeted deletion of the tachyinin I gene. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.95: 2630-2635, 1998.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v.16, p.109-110, 1996.

ZHANG, W. J.; CHEN, B. T.; WANG, C. Y.; ZHU, Q. H.; MO, Z. X. Mechanism of quercetin as an antidiarrheal agent. **Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao**. v.23, p.1029-1031, 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)