



Universidade Estadual do Ceará

Natália Rocha Celedonio

**Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e
antiedematogênico do óleo essencial de *Croton
argyrophyloides* e seus constituintes: alfa-pineno e
trans-cariofileno**

Fortaleza-Ceará
2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Estadual do Ceará

Natália Rocha Celedonio

**Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e
antiedematogênico do óleo essencial de *Croton
argyrophyloides* e seus constituintes: alfa-pineno e
trans-cariofileno**

Dissertação apresentada ao Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas da Universidade Estadual do Ceará, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientadora: Andrelina Noronha Coelho de Souza

Co-orientadora: Crystianne Calado Lima

Fortaleza-Ceará
2008

Universidade Estadual do Ceará

Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas

Título do Trabalho: Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e antiedematogênico do óleo essencial de *Croton argyrophylloides* e seus constituintes: alfa-pineno e trans-cariofileno

Autora: Natália Rocha Celedonio

Defesa em: 15/02/2008

Conceito obtido: SATISFATÓRIO COM
DISTINÇÃO E LOUVOR

Nota obtida: 10,0

Banca Examinadora

Andreлина Noronha Coelho de Souza, Prof^a. Dr^a.
Orientadora

Valdenize Tiziani, Prof^a. Dr^a.

Otoni Cardoso do Vale, Prof. Dr.

Somos constituídos da mesma substância de que
são feitos os sonhos e a nossa vida está rodeada
pela inconsciência.

William Shakespeare

Há um tempo em que é preciso abandonar as
roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo,
e esquecer os nossos caminhos, que nos levam
sempre aos mesmos lugares. É o tempo da
travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos
ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.

Fernando Pessoa

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser aquele que me aponta as saídas quando parece que o caminho não leva a lugar algum, por ser aquele que me sustenta, por ser Aquele em quem posso confiar plenamente.

A minha família: meus pais, Eudes Celedonio e Irene Rocha Celedonio, e meus irmãos, Patrícia Rocha Celedonio e Eduardo Rocha Celedonio, que compreenderam minha ausência e de longe (fisicamente) me deram força para que eu subisse mais um degrau em minha vida acadêmica.

A minha segunda família: meus tios, Neise Rocha Holanda e Pedro Holanda, e minha irmã Fernanda Rocha Holanda, que me acolheram em sua casa como parte da família, acompanharam e incentivaram minha evolução e me ouviram pacientemente falando das dores de cabeças causadas pelos “meus” camundongos.

À família LAFIEX (Laboratório de Fisiologia Experimental): Cybelle Linard, Jô Malveira, Carol Oliveira, Roney Feitosa, Jéssica Ferreira, pela agradável convivência; Glaydson e Renata, pela grande ajuda na reta final; Anna Patrícya, Renalison Pereira e Rômulo Porto pela solicitude, amizade e companheirismo de sempre; Magda Marinho e Cibele Vasconcelos, grandes amigas que estiveram comigo no começo, no meio e no final deste trabalho, torcendo para que todas as formalinas dessem certo; Ariclécio Oliveira, pela amizade, consultoria científica, apoio técnico e disponibilidade. Valéria Leonhardt, por ser muito mais que amiga, por ser a irmã que aconselha, que chora e que ri junto.

Ao LAFFIN (Laboratório de Físio-Farmacologia da Inflamação), na pessoa das amigas Paloma Leão e Natália Velloso. Em especial a grande amiga Alana Pires, por dividir comigo a angústia de desenhar cada protocolo experimental (relativo a investigação do mecanismo de ação antinociceptiva), desde a hora de conseguir animal e drogas até obter o silêncio necessário para a execução dos experimentos, e pela companhia agradável nas comemorações das vitórias alcançadas.

A minha orientadora, Dr^a. Andrelina Noronha Coelho de Souza, que durante estes quase seis anos de convivência foi para mim muito mais do que uma orientadora científica. Obrigada por acreditar em mim, por “abraçar a minha causa”, por lutar pela concretização dos nossos (meus e seus) objetivos, e pelos muitos momentos de agradável convivência, tanto como orientadora quanto como amiga.

Ao professor Dr. José Henrique Leal Cardoso pelo carinho e por sempre fazer o possível para solucionar os problemas, de ordem técnica e financeira, que surgiram durante o desenvolvimento deste projeto.

À professora Dr^a Cláudia Ferreira Santos, que nunca deixou de estar presente, estabelecendo uma parceria indispensável para a execução deste trabalho, além de ser a amiga de sempre.

Aos colegas do mestrado Bianca Silva, Dieniffer Neves, Diana Moreira, Felipe Crescêncio, Isabela Carvalho, Marta Oliveira e Raquel Felipe, por tornarem o processo de aprendizagem mais prazeroso. E em especial aos colegas/amigos Clauber Mota, Débora Fernandes, Rômulo Celly e Valéria Leonhardt pelo companheirismo que vai além dos muros da UECE.

A todos os professores do Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, que compartilharam conosco seus conhecimentos.

Aos funcionários Ecila, Lindalva, Mauro Sérgio, Gleidson, Pedro Militão e Franck.

Aos órgãos financiadores e colaboradores CAPES, FUNCAP, UFC, PADETEC, Laboratório de Química da UECE e Faculdade CHRISTUS.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT - Serotonina
5-HT₃ - Receptores para serotonina tipo 3
ACP - Área cinzenta periaquedutal
ANOVA - Análise de Variância
ATP - Adenosina trifosfato
B₁ – Receptores de cinina tipo 1
B₂ – Receptores de cinina tipo 2
CGRP - Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
COX-1 - Ciclo-oxigenase 1
COX-2 - Ciclo-oxigenase 2
GABA - Ácido gama-amino-butírico
GABA_A - Receptores gabaérgicos tipo A
GABA_B - Receptores gabaérgicos tipo B
GMPc - Guanosina monofosfatase cíclica
H₁ - Receptores histaminérgicos tipo 1
H₂ - Receptores histaminérgicos tipo 2
i.p. - Intraperitoneal
IL-10 - Interleucina 10
IL-12 - Interleucina 12
IL-13 - Interleucina 13
IL-1 β - Interleucina 1 β
IL-4 - Interleucina 4
IL-8 - Interleucina 8
NK₁ -Receptores periféricos da substância P tipo 1
NK₂ - Receptores periféricos da substância P tipo 2
NMDA - N-metil-D-aspartato
NMR - Núcleo magno da rafe
NO - Óxido nítrico

NOS - Óxido nítrico sintase
NOSe - Óxido nítrico sintase endotelial
NOSi - Óxido nítrico sintase induzida
NOSn - Óxido nítrico sintase neuronal
°C – Graus centígrado
OECa - Óleo essencial de *Croton argyrophylloides*
OECn - Óleo essencial de *Croton nepetaefolius*
OECson - Óleo essencial de *Croton sonderianus*
OECz - Óleo essencial de *C. zehntneri*
OMS - Organização Mundial de Saúde
PAF - Fator de agregação plaquetária
PGD₂ – Prostaglandina D₂
PGE₂ - Prostaglandina E₂
PGF_{2 α} - Prostaglandina F_{2 α}
PGI₂ – Prostaglandina I₂
RNAm - Ácido ribonucléico mensageiro
s.c. - Subcutânea
SNC- Sistema nervoso central
SP - Substância P
TGF- β - Fator de crescimento β
TNF α - Fator de necrose tumoral α
v.o. - Via oral
v/v - Volume/Volume

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Estrutura plana do alfa-pineno	28
Figura 2-	Estrutura plana do trans-carifileno	29
Figura 3-	Efeito do alfa-pineno no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético	60
Figura 4-	Efeito do OECa no teste da formalina	61
Figura 5-	Efeito do alfa-pineno no teste da formalina	62
Figura 6-	Efeito do alfa-pineno no teste da placa quente	64
Figura 7-	Efeito do trans-cariofileno no teste da placa quente	65
Figura 8-	Efeito do OECa no teste do glutamato	67
Figura 9-	Efeito do alfa-pineno no teste do glutamato	67
Figura 10-	Efeito do trans-cariofileno no teste do glutamato	68
Figura 11-	Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do OECa	70
Figura 12-	Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno	72
Figura 13-	Participação da via L-arginina/Óxido nítrico no efeito antinociceptivo do OECa	74
Figura 14-	Participação da via L-arginina/Óxido Nítrico no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno	76
Figura 15-	Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo do OECa	78
Figura 16-	Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno	80
Figura 17-	Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 2$ no efeito antinociceptivo do OECa	82
Figura 18-	Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 2$ no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno	83
Figura 19-	Ausência de efeito do OECa no edema de pata induzido por glutamato	85
Figura 20-	Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por glutamato	85
Figura 21-	Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato	87
Figura 22-	Efeito do OECa no edema de pata induzido por dextrana	89
Figura 23-	Ausência de efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por dextrana	89
Figura 24-	Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por dextrana	90
Figura 25-	Efeito do OECa no edema de pata induzido por carragenina	93
Figura 26-	Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina	93
Figura 27-	Efeito do OECa no edema de pata induzido por serotonina	94
Figura 28-	Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por serotonina	96
Figura 29-	Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por serotonina	96
Figura 30-	Efeito do OECa no edema de pata induzido por bradicinina	98

Figura 31-	Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina	98
Figura 32-	Efeito do OECA no edema de pata induzido por histamina	100
Figura 33-	Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por histamina	100

RESUMO

O *Croton argyrophyloides*, popularmente conhecido como “marmeleiro prateado”, é uma espécie nativa da caatinga do Nordeste. O óleo essencial de *Croton argyrophyloides* (OECa) possui comprovado efeito antinociceptivo e antiedematogênico (Canuto, 2005). O objetivo deste estudo foi elucidar o mecanismo de ação antinociceptivo e antiedematogênico do OECa e avaliar a participação de dois de seus constituintes (alfa-pineno e trans-cariofileno) em seu efeito antinociceptivo e antiedematogênico. Para isto investigamos o efeito do OECa, bem como do alfa-pineno e trans-cariofileno, aplicados por via oral, em modelos experimentais de dor e inflamação. A aplicação do alfa-pineno nas doses de 30, 100 e 300 mg/Kg reduziu significativamente a dor induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético. Na dose de 10 e 30 mg/Kg, o alfa-pineno reduziu significativamente a dor induzida pela injeção intraplantar de formalina somente na primeira fase do teste. O pré-tratamento com alfa-pineno ou trans-cariofileno na dose de 300 mg/Kg aumentou significativamente o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico no teste da placa quente. Animais pré-tratados com OECa (600 mg/Kg), alfa pineno (300 mg/Kg) ou trans-cariofileno (100 e 300 mg/Kg) reverteu significativamente a dor induzida pela injeção intra-plantar de glutamato. OECa aplicado na dose de 300 mg/Kg, reverteu significativamente a dor induzida pela injeção intraplantar de formalina em ambas as fases do teste. O pré-tratamento com naloxona, prazosin ou L-arginina não influenciou o efeito do OECa na primeira fase do teste da formalina, mas este foi significativamente revertido pelo pré-tratamento com ioimbina. Na segunda fase do teste o efeito antinociceptivo do OECa foi significativamente revertido pelo pré-tratamento com naloxona, prazosin, ioimbina ou L-arginina. O efeito antinociceptivo do trans-cariofileno na dose de 300 mg/Kg, em ambas as fases do teste da formalina, foi demonstrado por Canuto, 2005. Nosso estudo mostra que o pré-tratamento com naloxona ou L-arginina reverteu significativamente o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno na primeira fase do teste da formalina, mas o pré-tratamento com prazosin ou ioimbina não teve influencia sobre este efeito. O efeito antinociceptivo do trans-cariofileno na segunda fase foi significativamente revertido pelo pré-tratamento com naloxona, prazosin ou L-arginina, mas não foi influenciado pelo pré-tratamento com ioimbina. O OECa aplicado na dose de 100 mg/Kg apresentou significativa ação antiedematogênica nos modelos de edema de pata induzidos por

dextrana, carragenina, serotonina e histamina. O pré-tratamento com OECa apresentou muito pouca ou nenhuma influência, respectivamente, nos modelos de edema de pata induzido por bradicinina ou glutamato. O pré-tratamento com trans-cariofileno, na dose de 100 ou 300 mg/Kg reverteu significativamente o edema de pata induzido pela injeção de glutamato, dextrana ou carragenina. O pré-tratamento com alfa-pineno nas doses de 100 ou 300 mg/Kg reverteu, de maneira considerável o edema de pata induzido pela injeção de carragenina, serotonina ou glutamato. A aplicação do alfa-pineno resultou em uma discreta influência sobre o edema de pata induzido pela injeção de bradicinina ou histamina, e nenhum efeito sobre o edema induzido pela injeção intraplantar de dextrana. De acordo com os resultados obtidos neste estudo podemos concluir que: 1- o alfa-pineno apresenta efeito antinociceptivo periférico sobre a dor de origem inflamatória e uma provável atuação em sítios centrais, sendo que uma das vias usadas pelo alfa-pineno em sua ação antinociceptiva é a via glutamatérgica; 2- dependendo do tipo/origem da dor, o trans-cariofileno pode atuar através das vias glutamatérgica, opioidérgica, dos $\alpha 1$ -adrenoceptores ou da via L-arginina/óxido nítrico para exercer seu efeito antinociceptivo; 3- dependendo do tipo/origem da dor, o OECa pode atuar através das vias glutamatérgica, opioidérgica, dos $\alpha 1$ - ou $\alpha 2$ -adrenoceptores ou da via L-arginina/óxido nítrico para exercer seu efeito antinociceptivo; 4- a atividade antiedematogênica do OECa nos modelos de edema de pata induzidos por dextrana e carragenina é resultado de sua ação modulatória sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina e histamina, somada à sua provável ação sobre a liberação de bradicinina e interação com a via das prostaglandinas; 5- o efeito antiedematogênico do trans-cariofileno no modelo de edema de pata induzido por dextrana provavelmente deve-se à sua ação modulatória sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina; 6- a atividade antiedematogênica do alfa-pineno nos modelos de edema de pata induzidos por dextrana e carragenina é resultado de sua ação modulatória sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina, somada à sua provável ação sobre a liberação de histamina e bradicinina e uma possível interação com a via das prostaglandinas; 7- a atividade antiedematogênica do trans-cariofileno ou alfa-pineno no modelo de edema de pata induzido por glutamato provavelmente deve-se a interações com receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK₂.

ABSTRACT

The *Croton argyrophylloides*, popularly known as "marmeleiro prateado" is a native species from the northeast caatinga. The *Croton argyrophylloides* essential oil (OECa) has a verified antinociceptive and antioedematogenic effect (Canuto, 2005). This study objective is to determinate the OECa antinociceptive and antioedematogenic action mechanism, as well as the participation of its two constituents (α -pinene and trans-caryophyllene) in these effects, for this we use models of pain and inflammation. Oral application of α -pinene at dose of 30, 100 and 300 mg/Kg significantly reduced the pain induced for acetic acid intraperitoneal injection. At 10 and 30 mg/Kg dose, α -pinene applied orally, significantly reduced pain induced by injection of formalin at the test first phase. The pre-treatment with α -pinene or trans-caryophyllene at the dose of 300 mg/Kg, applied orally, significantly increased the answer latent time to the thermic stimulus at the hot plate test. Pre-treated animals, orally with OECa (600 mg/Kg), α -pineno (300 mg/kg) or trans-caryophyllene (100 e 300 mg/Kg) significantly reverted the pain induced by injection of glutamate. OECa applied orally at dose of 300 mg/Kg, significantly reverted the pain induced by injection of formalin in both phases of the test. The pre-treatment with naloxone, prazosin or L-arginine did not affect the effect of the OECa at the first phase of the formalin test, but it was significantivaly reverted by the pre-treatment with ioimbine. At the second phase the OECa antinociceptive effect was significantly reveted by the pre-treatment with naloxone, prazosin, ioimbine or L-arginine. The trans-caryophyllene antinociceptive effect, at dose 300 mg/Kg, in both phases of formalin test was demonstrated by Canuto, 2005. Our study show that the pre-treatment with naloxone or L-arginine significantly reverted the antinociceptive effect of the trans-caryophyllene at the test first phase of formalin , but the pre-treatment with prazosin or ioimbine did not have influence over this effect. The trans-caryophyllene antinociceptive effect at the second phase was significantly reverted by the pre-treatment with naloxone, prazosin or L-arginine, but it was not influenced by pre-treatment with ioimbine. The OECa applied orally, at 100mg/Kg dose, presented significant antioedematogenic action at the paws oedema induced by dextran, carrageenan, serotonin and histamine. The pre-treatment with OECa presented very little or no influence, respectively, on the paw oedema induced by bradykinin or glutamate. The oral

pre-treatment with trans-caryophyllene, at dose of 100 or 300 mg/Kg significantly reverted the paw oedema induced by injection of glutamate, dextran or carrageenan. The oral pre-treatment with α -pinene, at dose of 100 or 300 mg/Kg, reverted considerably the paw oedema induced by injection of carrageenan, serotonin or glutamate. The α -pinene applied orally presented only a discrete influence over the paw oedema induced by injection of bradykinin or histamine, and no effect over the oedema induced by the injection of dextran. According with the obtained results in this study we could conclude that: 1- the α -pinene presents peripheral antinociceptive effect over pain with inflammatory origin and probable act on central sites, one of the ways used by α -pinene at its antinociceptive action is the glutamatergic way; 2- depending on the type/origin of the pain, the trans-caryophyllene can act thru the glutamatergic, opioidergic, L-arginine/oxide nitric ways, or thru of the α 1-adrenoceptors to exert its antinociceptive effect; 3- depending on the type/origin of the pain, the OECa can act thru the glutamatergic, opioidergic, L-arginine/oxide nitric ways, or thru of the α -1- or α -2-adrenoceptors to exert its antinociceptive effect; 4- the antioedematogenic activity of the OECa at the paw oedema models induced by dextran and carrageenan is the result of its modulatory action over the synthesis, liberation and/or action of serotonin and histamine, summed up with its probable action over the liberation of bradykinin and interaction with the prostaglandins pathway; 5- the antioedematogenic effect of the trans-caryophyllene at the paw oedema induced by dextran probably happen due to its modulatory action over the synthesis, liberation and/or serotonin action; 6- the antioedematogenic activity of the α -pinene at the paw oedema induced by dextran and carrageenan is result of its modulatory action over the synthesis and/or serotonin liberation, summed up to its probable action over the liberation of histamine and bradykinin and a possible interaction with the prostaglandin pathway; 7- the antioedematogenic activity of the trans-caryophyllene or α -pinene at the paw oedema induced by glutamate probably happen due to interactions with ionotropic receptors not-NMDA and NK₂ receptors.

1.0- INTRODUÇÃO

Atualmente, no mundo, há uma grande procura por uma vida mais saudável. Valores naturais e ecológicos surgem com grande força na determinação de novos preceitos, em todas as áreas do conhecimento científico e da vida prática. Como reflexo desta tendência o uso de plantas medicinais pela população mundial tem crescido muito nos últimos tempos; dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que cerca de 80% da população mundial já fez uso de algum tipo de erva na busca de alívio de alguma sintomatologia dolorosa ou desagradável (Ramos *et al.*, 2005).

Embora o uso de plantas medicinais seja uma prática milenar, pode-se notar que a demanda por medicamentos derivados de plantas cresceu recentemente. Esta tendência é mostrada claramente pelo crescimento rápido de aplicações de patentes relacionadas à medicina herbácea e pela grande taxa de crescimento (5-15 %) para tais medicamentos no mercado mundial; no Brasil o uso da fitoterapia vem crescendo na ordem de 10 a 15 % ao ano (Ramos *et al.*, 2005; Kartal, 2007).

Um dos grandes motivos para o desenvolvimento da medicina herbácea é o elevado custo para desenvolver medicamentos sintéticos ou semi-sintéticos, por outro lado os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais, via de regra, originam medicamentos em menor tempo, com custos muitas vezes inferiores e, conseqüentemente, mais acessíveis à população.

Desta forma, o interesse pelas plantas medicinais, especialmente por aquelas selecionadas através da comprovação científica de sua eficácia e segurança terapêuticas, tem assumido crescente importância como recurso terapêutico alternativo especialmente nos programas de atenção primária de saúde (Martins *et al.*, 1995).

1.1- Produtos naturais

As plantas produzem uma grande diversidade de compostos orgânicos que não parecem estar envolvidos diretamente no seu crescimento e desenvolvimento. Estes compostos são chamados de metabólitos secundários ou produtos naturais. Os metabólitos secundários não participam de processos tais como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação celular e formação de carboidratos, proteínas e lipídios. No entanto, tem sido sugerido que muitos metabólitos secundários têm importante função ecológica nas plantas, protegendo-as contra predadores e patógenos, além de funcionar como atrativo para agentes polinizadores e animais dispersores de sementes (Taiz e Zeiger, 2002; Wink, 2003).

Os produtos naturais são tradicionalmente usados para aliviar doenças e seu uso pode ser identificado em diversas civilizações há mais de cinco milhões de anos. Atualmente, embora grandes avanços sejam observados na medicina moderna, os produtos naturais continuam contribuindo de maneira considerável nos cuidados com a saúde (Cragg *et al.*, 1997; Shu, 1998).

É importante ressaltar que, embora preparações homeopáticas possam conter plantas, elas não são consideradas agentes fitoterápicos. Agentes fitoterápicos ou fitomédicos são padronizados como preparações de ervas, consistindo em misturas complexas de uma ou mais plantas, os quais são usados em muitos países no tratamento de diversas doenças. Uma característica comum aos agentes fitoterápicos é o fato de não serem usados nos tratamentos de emergência, mas sim no tratamento de doenças crônicas (Calixto, 2000).

Os produtos naturais apresentam importância tanto na medicina popular, sendo utilizado de forma abundante em países desenvolvidos e em desenvolvimento, como na indústria farmacêutica, onde se estima que 25 % de todos os fármacos modernos são, direta ou indiretamente, derivados de plantas (Cragg *et al.*, 1997; Shu, 1998).

Diversos fatores têm contribuído para o crescimento do interesse mundial no mercado de fitoterápicos, dentre eles pode-se destacar a preferência do consumidor por terapias naturais, a crença de que drogas derivadas de ervas não possuem efeitos colaterais e o alto custo das drogas sintéticas. Contudo, o uso destas drogas deve ser feito com cuidado, pois, apesar dos efeitos adversos de drogas derivadas de ervas serem menores do que aqueles de drogas sintéticas, eles podem existir (Calixto, 2000).

Quando comparadas com drogas sintéticas, as drogas derivadas de ervas apresentam pontos positivos e pontos negativos. Dentre os positivos o principal é a menor ocorrência de efeitos colaterais e o menor custo; já entre os negativos uma das principais dificuldades se concentra no fato de muitas vezes os princípios ativos permanecerem desconhecidos, bem como na dificuldade de padronizações, estabilizações e controle de qualidade dos produtos naturais (Calixto, 2000). Um dos produtos naturais mais utilizados são os óleos essenciais, também chamados óleos etéreos ou essências.

1.2- Óleos essenciais

O conhecimento sobre óleos essenciais de plantas data desde alguns séculos antes da era cristã. As referências históricas de obtenção e utilização desses óleos estão ligadas originalmente aos países orientais, com destaque para o Egito, Pérsia, Japão, China e Índia, de onde, no século XII, durante o período das cruzadas, estes conhecimentos difundiram-se até a Europa.

O Egito parece ser o berço da arte de obtenção de óleos essenciais através da destilação, apesar de existirem poucas referências atuais disso. Os egípcios utilizavam os óleos essenciais em massagens para embelezar e proteger a pele do clima árido e para embalsamar os mortos, mostrando que conheciam suas propriedades anti-sépticas. Tais conhecimentos espalharam-se para os antigos gregos e destes para os romanos, que eram ótimos perfumistas (Simões *et al.*, 1999).

Foi somente durante os séculos XVI e XVII que os óleos essenciais receberam suas primeiras aplicações e sua introdução no comércio. Desde então, a aromaterapia cresceu rapidamente ao redor do mundo. A partir do século XVIII, quando se iniciaram os estudos para caracterizações químicas dos óleos essenciais, houve uma evolução paralela dos conhecimentos técnicos sobre estes e, atualmente, grande é o número de plantas conhecidas para a produção de óleos essenciais em bases econômicas (Vitti e Brito, 2003).

O uso de óleos essenciais baseia-se em duas grandes áreas de aplicação: a nível fisiológico, uma vez que as substâncias constituintes são absorvidas pelo organismo via oral, cutânea, respiratória ou injetável; e a nível psicológico, onde os óleos atuam sobre o estado emocional e mental trazendo equilíbrio pela estimulação ou sedação (Burns, 2000).

O termo óleo essencial vem sendo usado para denominar líquidos oleosos voláteis, extraídos de diversas partes das plantas (flores, inflorescências, sementes, folhas, gravetos, cascas, frutos e raízes) por processos específicos, dotados de aroma quase sempre agradável e farmacologicamente ativo. Os óleos essenciais possuem, geralmente, sabor acre e picante; são instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor e umidade; são incolores, quando recentemente extraídos e apresentam-se como compostos opticamente ativos (Matos e Fernandes, 1975-1978).

A composição dos óleos essenciais, assim como a dos demais metabólitos secundários e, conseqüentemente, dos princípios ativos em plantas medicinais e aromáticas, depende de fatores genéticos, fisiológicos e ambientais. Ou seja, ela é determinada geneticamente, mas as condições ambientais e fisiológicas (temperatura, exposição a luz, idade da planta, estações e período do dia) são capazes de causar variações significativas nesta composição (Simões *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2004). Entre os constituintes dos óleos essenciais, alguns se apresentam em maior concentração, sendo conhecidos como componentes principais, outros se apresentam em baixíssimas concentrações, sendo conhecidos como componentes traços.

Uma ampla gama de constituintes químicos pode ser identificada nos óleos essenciais, havendo referências da presença de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas dentre outras, no entanto, a grande maioria dos óleos essenciais é constituída de uma mistura de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo que os últimos preponderam (Simões *et al.*, 1999; Vitti e Brito, 2003).

Estima-se que existam cerca de 3000 óleos essenciais conhecidos, dos quais 300 são comercialmente importantes principalmente para as indústrias de alimentos (condimentos e aromatizantes de alimentos e bebidas), cosmética (perfumes e produtos de higiene) e farmacêutica (Burt, 2004).

Por ser uma mistura complexa e possuir alta variabilidade de composição química, torna-se difícil estabelecer a atividade farmacológica dos óleos essenciais. Mesmo assim a exploração do potencial terapêutico desses é uma prática que vem se consolidando e, atualmente, já foram descritos vários efeitos biológicos que podem ser associados a estes óleos. Dentre estes efeitos estão o antiparasitário, antimicrobiano, analgésico, diurético, antimalárico, anti-hemorroidário, miorelaxante, antiespasmótico, anti-inflamatório, anticonvulsivante e gastroprotetor (Luz *et al.*, 1984; Menezes *et al.*, 1990; Mendonça *et al.*, 1991; Prudent *et al.*, 1993; Bezerra, 1994; Coelho-de-Sousa *et al.*, 1997; Magalhães *et al.*, 1998; Paiva *et al.*, 1998; Leal-Cardoso e Fonteles, 1999; Lahlou *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2001; Abdon *et al.*, 2002).

1.3- Características gerais de espécies do gênero *Croton*

Plantas da família das Euforbiáceas têm sido usadas, ao redor do mundo, para tratar muitas doenças. Esta família possui cerca de 300 gêneros e 5000 espécies de árvores, arbustos e ervas conhecidas. Os 300 gêneros de Euforbiáceas estão agrupados em 52 tribos e 5 subfamílias, com diversas destas tribos sendo divididas em subtribos. A distribuição geográfica dos gêneros

das Euforbiáceas concentrava-se, primitivamente, na África e Madagascar, mas algumas subfamílias se dispersaram em centros neotropicais (Webster, 1975, 1993, 1994).

O gênero *Croton* é um dos maiores da família das Euforbiáceas, com cerca de 800 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. É notavelmente bem representado na América do Sul; no Brasil estão registradas cerca de 300 espécies. Espécies do gênero *Croton* usualmente são monóicas, as inflorescências apresentam flores femininas na base e masculinas no ápice, caracterizam-se ainda por possuírem flores masculinas com filamentos flexionados no botão e as flores femininas com pétalas reduzidas ou ausentes (Webster, 1993, 1994; Suárez *et al.*, 2003).

Espécies do gênero *Croton* são ricas em constituintes que apresentam atividades biológicas, sendo diversas espécies descritas como plantas medicinais. Estas são utilizadas (na forma de infusões, chás e emplastos) como cicatrizante, anti-inflamatório, anti-microbiano, anti-câncer, para distúrbios do sistema gastrintestinal, anorexia, ansiedade, reumatismo e dor de cabeça (Matos, 2000).

Algumas das espécies do gênero *Croton* já tiveram suas atividades biológicas avaliadas e comprovadas, entre elas podem-se destacar *Croton lecheleri*, *Croton cajucara*, *Croton urucarana*, *Croton celitidifolius* Baill, *Croton malambo*, *Croton sonderianus* Muell.Arg., *Croton zehntineri* e *Croton nepetaefolius* (Lopes *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2002; Esmeraldino *et al.*, 2005; Nardi *et al.*, 2006; DalBó *et al.*, 2006; Suárez *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2005; Bernardi *et al.*, 1991; Oliveira *et al.*, 2001; Siqueira *et al.*, 2006; Morais *et al.*, 2006).

1.3.1- Efeitos biológicos de algumas espécies do gênero *Croton*

Há algum tempo nosso grupo de pesquisa vem investindo na caracterização dos efeitos biológicos de algumas espécies do gênero *Croton*, dentre elas pode-se destacar o *Croton zehntineri*, *Croton sonderianus*, *Croton nepetaefolius* e *Croton argyrophylloides*.

O *Croton zehntneri* Pax et Hoffm. é uma planta aromática abundante no Nordeste brasileiro. Conhecido como “canela de cunhã”, é utilizado na medicina popular para tratar ansiedade, anorexia e para o alívio de distúrbios gastrintestinais. Além disso, extratos de *C. zehntneri* são usados como adoçantes em comidas e bebidas e na produção de perfumes. As folhas de *C. zehntneri* têm um conteúdo de óleo essencial de aproximadamente 2% do peso da planta seca, e este inclui principalmente mono e sesquiterpenos (Craveiro *et al.*, 1978, 1997).

O óleo essencial de *C. zehntneri* (OECz) age sobre a musculatura lisa e esquelética apresentando efeito antiespasmódico em íleo isolado de cobaia e bloqueando a transmissão neuromuscular. Algumas vezes o OECz promove a contração da musculatura esquelética, além de potencializar a contração induzida por cafeína (Coelho-de-Souza *et al.*, 1997, 1998; Albuquerque *et al.*, 1995). O OECz apresenta ainda efeito antinociceptivo, em ratos e camundongos, provavelmente mediado por mecanismos centrais ou por algum mecanismo indireto, visto seu também comprovado efeito anti-inflamatório (Oliveira *et al.*, 2001; Batatinha *et al.*, 1995). Outros estudos mostraram que o tratamento de ratos conscientes com OECz induz a uma queda inicial na pressão sanguínea (mediada por um mecanismo colinérgico), seguida por uma resposta pressora (Siqueira *et al.*, 2006).

O *Croton sonderianus* Muell. Arg., popularmente conhecido como “marmeleiro preto”, é um arbusto muito comum da região nordeste do Brasil e já chegou a ser considerado uma erva daninha devido a densidade e dispersão de suas populações. O *C. sonderianus* é utilizado pela população como lenha para o fogo, material de tecelagem, e para construção de cercas e armadilhas de lagosta. Esta planta também é usada na medicina popular no tratamento de distúrbios gástricos. O óleo essencial de *Croton sonderianus* (OECson) é produzido por todas as partes da planta e apresenta-se como 1 % do peso seco da planta, sendo constituído de mono e sesquiterpenos (Craveiro *et al.* 1981, 1982; Matos 1999).

O OECson apresenta atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Lima-Accioly, *et al.*, 2006), possui também comprovado efeito antiedematogênico e efeito antinociceptivo em modelos de nocicepção induzida por ácido acético, capsaicina e formalina, ação esta que não está

relacionada com mecanismo opióide, mas pode estar relacionada à ativação de canais de K^+ dependentes de ATP (Carneiro-Loureiro, 2003; Santos *et al.*, 2005). O OECson apresenta ainda atividade antiulcerogênica e reduz o trânsito intestinal (Amaral, 2004; Yum, *et al.*, 2003).

Extratos de *C. sonderianus* mostraram atividade biológica em ensaios antimicrobianos qualitativos usando os bacilos gram-positivos de *Staphylococcus aureus*, as bactérias gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, as leveduras *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* e o fungo filamentoso *Aspergillus niger* (McChesney e Clark, 1991).

O *Croton nepetaefolius* Baill. é uma planta aromática abundante no nordeste brasileiro onde é conhecido como “marmeleiro sabiá” ou “marmeleiro vermelho”. É bastante utilizado na medicina popular, nas formas de chás e infusões como antiespasmódico, no tratamento de flatulências, cólicas intestinais e para aumentar o apetite. As folhas de *C. nepetaefolius* têm um conteúdo de óleo essencial de aproximadamente 2% do peso de folha seca e inclui, principalmente, mono e sesquiterpenos (Craveiro *et al.*, 1980; Leal-Cardoso e Fonteles, 1999).

O óleo essencial de *Croton nepetaefolius* (OECn) atua sobre músculo liso vascular, traqueal e íleal. De maneira dose-dependente diminui a pressão sanguínea em ratos hipertensos conscientes, sendo que este efeito parece estar relacionado ao maior relaxamento do músculo liso vascular, o que dá suporte a proposição de que ele atua como vaso relaxante (Lahlou *et al.*, 2000). O OECn apresenta atividade antiespasmódica sobre músculo liso respiratório (provavelmente por mecanismos miogênicos) e induz o relaxamento de íleo de cobaia através da ação direta sobre o músculo liso via mecanismos independentes de alterações no potencial transmembrana ou do influxo de Ca^{2+} (Magalhães *et al.*, 2003, 2004).

Além de atuar sobre músculo liso o OECn bloqueia a excitabilidade de nervo ciático de maneira dose-dependente (Lima-Accioly *et al.*, 2006), apresenta efeito antinociceptivo em camundongos (Abdon *et al.*, 2002), atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Lima-Accioly, *et al.*, 2006) e ação antioxidante (Morais *et al.*, 2006).

O *Croton argyrophyloides* Muell. Arg. é uma espécie nativa da caatinga do Nordeste brasileiro, sendo popularmente conhecido como “marmeleiro prateado”. Diferente das outras espécies de *Croton*, citadas neste tópico, não se encontra relatos do uso medicinal do *C. argyrophyloides*. Por outro lado, assim como os óleos extraídos do *Croton zehntneri*, do *Croton sonderianus* e do *Croton nepetaefolius*, o óleo do *Croton argyrophyloides* é composto principalmente por mono e sesquiterpenos (Matos, 1999; Morais *et al.*, 2006).

Não existem muitos relatos, na literatura científica, sobre os efeitos farmacológicos do óleo essencial de *Croton argyrophyloides* (OECa), mas alguns estudos recentes comprovaram sua atividade antibacteriana para as espécies *Streptococcus sp*, *Serratia sp*, *Staphylococcus sp*, *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosas* (Fortes *et al.*, 2003), sua ação antioxidante (Morais *et al.*, 2006) e sua atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (Lima-Accioly, *et al.*, 2006).

Estudos realizados em nosso laboratório comprovaram o efeito antinociceptivo do OECa em modelos de nocicepção térmica e química, como no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste da placa quente e nocicepção induzida por formalina, capsaicina e glutamato. Além disto, foi demonstrado o efeito antiedematogênico do OECa em modelos de edema de pata induzido por carragenina, dextrana e serotonina e no modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton (Canuto, 2005).

1.4- Constituintes do óleo essencial de *Croton argyrophyloides*

Dentre os principais constituintes do óleo essencial de *Croton argyrophyloides* que será estudado neste trabalho estão os terpenóides alfa-pineno e o trans-cariofileno. Os terpenóides são metabólitos secundários abundantemente encontrados em plantas, sendo classificados, de acordo com suas unidades isoprênicas em mono-, sesqui-, di-, e tri-terpenos. Os terpenóides são comumente usados como aditivos em alimentos industrializados e na indústria de cosméticos; também têm sido demonstrado que alguns terpenóides apresentam atividade anti-microbiana,

inseticida, anti-carcinogênica e anti-inflamatória (Tsao e Coats, 1995; Griffin *et al.*, 1999; Grodnitzky e Coats, 2002; Murakami *et al.*, 2004; Bouvier *et al.*, 2005; Han, 2005).

1.4.1- Alfa-pineno

O alfa-pineno é um monoterpene derivado de duas unidades isoprênicas. Alguns estudos demonstraram que o alfa-pineno apresenta atividade antimicrobiana e neuroprotetora em neuroblastomas humanos, além de afetar o metabolismo energético de mitocôndrias isoladas através de pelo menos dois mecanismos, sendo eles o desacoplamento da fosforilação oxidativa ou inibição da cadeia transportadora de elétrons (Cowan, 1999; Abrahim *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2007).

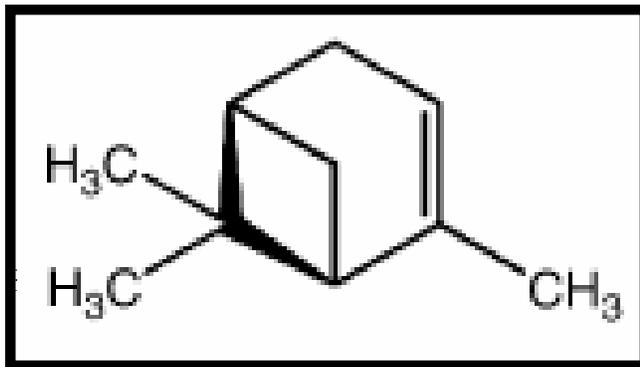


FIGURA 1: Estrutura plana do alfa-pineno

1.4.2- Trans-cariofileno

O trans-cariofileno é um sesquiterpeno bicíclico com um raro anel de ciclobutano. É naturalmente encontrado com uma mistura de alfa-humuleno e iso-cariofileno em alguns óleos essenciais tais como o de limão, gerânio, timo, lavanda, dentre outros. O trans-cariofileno é usado em misturas de temperos, em sabões e detergentes, bem como em uma grande variedade de produtos alimentícios (Standen *et al.*, 2006; Sabulal *et al.*, 2006).

Entre as atividades biológicas confirmadas do trans-cariofileno, pode-se citar sua ação anti-inflamatória e anestésica local, efeito citoprotetor gástrico, atividade neuroprotetora em neuroblastomas humanos e efeito estimulante sobre células natural killer (Tambe *et al.*, 1996; Ghelardini *et al.*, 2001; Passos *et al.*, 2006; Standen *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2007).

Além destes efeitos biológicos, estudos realizados em nosso laboratório comprovaram o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno em modelos de nocicepção química como no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético e no teste de formalina (Canuto, 2005). Porém estes estudos limitaram-se a demonstrar o efeito antinociceptivo, sem no entanto elucidar as vias de ação.

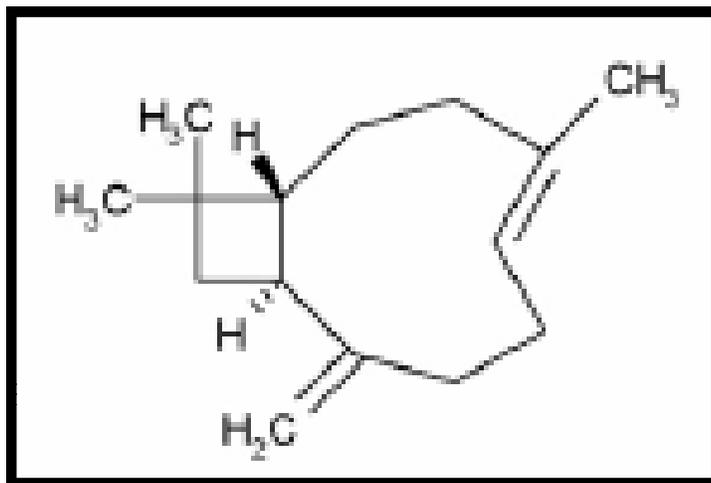


FIGURA 2: Estrutura plana do trans-carifileno

1.5- Dor

A dor é uma experiência sensorial e fisiológica que envolve quatro dimensões principais: sensorio-discriminativa – reconhece o estímulo e discrimina sua natureza, intensidade e duração, fazendo a análise espacial, temporal e qualitativa da dor; afetivo-emocional – determina o caráter desagradável, aversivo e de sofrimento do estímulo nociceptivo; cognitiva – envolve a avaliação cortical intelectual global da informação nociceptiva e identifica possíveis estratégias de ação; e comportamental – inclui as repostas verbais e não verbais ao estímulo doloroso (Calvino e Grilo, 2006).

Por ter esta natureza complexa podemos distinguir dois conceitos relacionados a dor, a nocicepção, que se refere a uma manifestação neurofisiológica gerada por estímulos nóxios; e a dor propriamente dita, envolvendo a percepção de um estímulo aversivo, o que requer a capacidade de abstração e a elaboração de impulsos sensoriais (Almeida *et al*, 2004).

A dor relacionada a alguma lesão tecidual ou doença possui uma função protetora de alerta que se reflete em ativação fásica dos nociceptores por estímulos potencialmente perigosos, levando a uma retirada motora e/ou reação de fuga, ou seja, repostas que têm como finalidade interromper a exposição ao estímulo nóxico e, por este meio, finalizar o processo doloroso (Almeida *et al*, 2004).

A dor aguda, em algumas condições, pode levar a um generalizado comportamento de alerta (respostas endócrinas específicas, como a secreção de corticosterona e ativação simpática), aliado a uma antinocicepção passageira, melhorando, desta forma a performance comportamental do indivíduo e permitindo que ele afaste-se do perigo iminente ou de outras situações que potencialmente levariam a sérias lesões teciduais (Wiertelak *et al.*, 1994; Traub, 1997).

Enquanto a dor aguda está relacionada com leve lesão tecidual, a dor crônica está associada com maior lesão tecidual, inflamações ou neuropatologias. Em quadros de dor crônica existe a superposição de outros eventos além dos mecanismos básicos da nocicepção, o que altera

a relação entre estímulo e resposta, além de alterar a habilidade de modulação, característica dos estados dolorosos agudos (Dray *et al.*, 1994). Com isto, as dores persistentes, acompanhadas por lesão tecidual e/ou injúria neural, são geralmente caracterizadas por sua natureza espontânea (não é gerada por estímulo extrínseco) e pela presença de hiperalgesia e/ou alodinia (Millan, 1999).

A hiperalgesia e a alodinia são consideradas formas de manifestações nociceptivas e consistem, respectivamente, em aumento da dor como resposta a um estímulo nóxico, e dor devido a um estímulo que normalmente não provocaria dor (Almeida *et al.*, 2004). Ambas as manifestações nociceptivas estão relacionadas a hiperatividade e/ou alteração das fibras responsáveis pela transmissão do impulso doloroso (Dray *et al.*, 1994).

A dor pode ainda ser classificada em nociceptiva (estimulação excessiva dos nociceptores); neurogênica (lesão ao tecido neural); neuropática (disfunção de um nervo) psicogênica (fatores psicológicos) e inflamatória. A dor inflamatória, assim como a dor nociceptiva, apresenta função fisiológica, sendo a primeira resultado de qualquer inflamação e a segunda resultado da ativação aguda das fibras nociceptivas primárias. Já a dor neuropática e neurogênica, originada de lesão nos neurônios ou nervos, centrais ou periféricos, são acompanhadas por intensa dor espontânea e não apresentam função fisiológica, sendo as dores mais difíceis de tratar (Millan, 1999; Zeilhofer, 2007).

1.5.1- Neuroanatomia da dor

A cascata de eventos que levam a integração dos sinais dolorosos envolve receptores (nociceptores periféricos), vias ascendentes na medula espinhal, áreas de integração no cérebro (localizadas principalmente no tálamo) e projeções corticais (para áreas do córtex somatossensorial primário e secundário, bem como para o córtex insular e cingular) (Calvino e Grilo, 2006).

A propagação da dor inicia-se com a ativação de receptores fisiológicos chamados nociceptores sendo que, normalmente, esta ativação é resultado de estímulos mecânicos, térmicos e/ou químicos. Os receptores da dor são diferentes dos demais receptores, pois respondem a estímulos que, por sua intensidade, são capazes de lesionar os tecidos, enquanto por outro lado não respondem a estímulos de média e baixa intensidade (Pazo, 2004).

Outra característica própria dos nociceptores é que estes, em contraste com os receptores visuais, olfativos ou táteis, estão associados a terminações nervosas livres, não estando localizados em uma estrutura anatômica particular. Eles se encontram dispersos por todo o corpo, innervando a pele, músculos, articulações e órgãos internos (Julius e Basbaum, 2001).

Os nociceptores estão associados a fibras aferentes de pequeno diâmetro, que podem ser mielinizadas (fibras tipo A) ou amielinizadas (fibras tipo C). As fibras aferentes de primeira ordem, relacionadas com a condução de estímulos dolorosos, são classificadas de acordo com sua estrutura, diâmetro e velocidade de condução em três tipos: fibras C, fibras A-beta e fibras A-delta (Rang *et al.* 2001).

As fibras tipo C, possuem diâmetro de 0,4 a 1,2 μm e uma velocidade de condução que varia de 0,5 a 2,0 m/s. Estas fibras apresentam receptores termosensíveis que respondem ao calor e ao frio, mecanonociceptores de baixo limiar e receptores específicos para substâncias alógenas tais como íons potássio, acetilcolina, enzimas proteolíticas, serotonina, prostaglandinas, substância P e histamina. Muitas fibras C com receptores de alto limiar respondem igualmente a estímulos mecânicos, térmicos ou químicos e, por esta razão são chamadas polimodais (Mense, 1983; Millan, 1999).

As fibras A-delta têm diâmetro que varia de 2,0 a 6,0 μm , conduzindo em uma velocidade de 12 a 30 m/s. Elas transmitem informações de alta intensidade e baixa latência, promovendo a sensação dolorosa rápida da primeira fase da dor aguda, desencadeando a ação de retirada. As fibras A-delta dividem-se em 2 grupos: tipo I, corresponde às fibras com receptores de limiar alto, que respondem a estímulos mecânicos de alta intensidade e a estímulos térmicos ou químicos de baixa intensidade; tipo II, apresenta fibra com receptores que são estimulados por

altas temperaturas (45-53°C) e alguns receptores para frio intenso (-15°C) (Willis e Westlund, 1997; Almeida *et al.*, 2004).

Fibras A-beta possuem diâmetro maior que 10 µm e velocidade de condução que varia entre 30 e 100 m/s. Estas fibras não propagam estímulos potencialmente nóxios em situações normais, contudo, elas são fundamentais no circuito doloroso, pois participam no mecanismo de supressão segmentar da dor (Willis e Westlund, 1997; Millan, 1999).

A via central de processamento da informação nociceptiva inicia-se a nível do corno dorsal da medula espinhal. As fibras A-delta e C penetram perpendicularmente no corno dorsal e terminam nas lâminas superficiais (I e II) ou estendem-se até lâminas mais profundas (V, VI, VII e X). Os interneurônios do corno dorsal são responsáveis não só pela transmissão da informação nociceptiva para os neurônios que se projetam para o cérebro, mas também por modular esta informação e transmiti-la para outros neurônios do próprio corno dorsal (Melzack e Wall, 1965; LeBars *et al.*, 1979; Calvino e Grilo, 2006).

A ação modulatória do corno dorsal é explicada através da “teoria do portão”. De acordo com este modelo de controle, a ativação das fibras A-alfa e A-beta (de maior diâmetro) aumenta a atividade de interneurônios inibitórios, desta forma “fecha o portão” e bloqueia a transmissão do impulso doloroso para estruturas supraespinhais; por outro lado, a ativação de fibras A-delta e C (de menor diâmetro), através da inibição da ativação dos interneurônios inibitórios “abre o portão”, facilitando a transmissão dos impulsos nociceptivos para estruturas supraespinhais. Este mecanismo de modulação espinhal também é controlado por estruturas supraespinhais (Wall, 1978; LeBars *et al.*, 1979).

Os axônios dos neurônios nociceptivos do corno dorsal constituem as vias ascendentes dos tratos espinhais que projetam as informações nóxias para várias estruturas supraespinhais. A maioria destes axônios decursa a nível dos segmentos espinhais e depois trafegam pelo lado contralateral. Conseqüentemente, as projeções supraespinhais são contralaterais ao estímulo. As projeções destes neurônios da medula espinhal transmitem informações para numerosas regiões do tronco encefálico e diencefalo, incluindo o tálamo, região parabraquial e formação reticular do

bulbo, bem como para estruturas límbicas no hipotálamo, núcleos septais entre outros (Willis *et al.*, 1984; Almeida *et al.*, 2004; Pazo, 2004; Calvino e Grilo, 2006).

Os pontos de projeções para os neurônios nociceptivos são divididos em quatro categorias. A categoria principal é composta pelos núcleos localizados no tálamo ventrolateral, o qual é específico para o toque e nocicepção. Estes neurônios recebem sinais nociceptivos que convergem pelos axônios do trato espinotalâmico, os quais possuem seus corpos celulares nas lâminas I, IV e V do corno dorsal. A distribuição dos sinais que chegam através deste trato é altamente estruturada, refletindo a organização somatotrópica dos neurônios talâmicos. A via espinotalâmica, provavelmente, distribui informações nociceptivas para áreas do córtex que se relacionam com aspectos discriminativos e afetivos da dor (Hunt e Mantyh, 2001; Calvino e Grilo, 2006).

A segunda categoria inclui pontos de projeções na medula oblonga (núcleo gigantocelular) e mesencéfalo (área cinzenta periaquedutal (ACP) e núcleo cuneiforme), estas áreas recebem informações que convergem através dos tratos espinoreticular e espinotalâmico. Estes pontos contribuem para a reposta de alerta do centro cardiorespiratório, o desenvolvimento de respostas motoras e emocionais e mecanismos de alerta envolvidos nas respostas aos estímulos dolorosos (Almeida *et al.*, 2004; Calvino e Grilo, 2006).

A terceira categoria é composta pelo hipotálamo que recebe terminações axônicas provenientes tanto diretamente do trato espinotalâmico, quanto indiretamente do trato espinobraquial-hipotalâmico. O hipotálamo está envolvido nas respostas dolorosas que estão sobre controle do sistema nervoso autônomo e que contribuem para liberação de hormônios envolvidos no controle do estresse (Calvino e Grilo, 2006).

Finalmente, a quarta categoria envolve o complexo amigdalóide, que faz parte da estrutura límbica, este recebe informações do núcleo parabraquial lateral. Estas informações convergem de neurônios nociceptivos específicos localizados na lâmina I do corno dorsal e são transmitidas para a via espinopontina-amigdalóide. Esta via parece estar envolvida nas respostas afetivas e emocionais relacionadas a dor (Willis *et al.*, 1984; Calvino e Grilo, 2006).

1.5.2- Neuroquímica da dor

É evidente o fato de que cada estágio de dor gera um grupo único de mudanças neuroquímicas nos neurônios sensoriais e na medula espinhal. Existem várias fontes importantes onde mediadores químicos que participam da perpetuação da resposta dolorosa são gerados, das quais se destacam os tecidos lesados e adjacentes, o sistema vascular, as células imunes, os nervos simpáticos e sensoriais, entre outras (Millan, 1999).

Os nociceptores têm a capacidade de diferenciar uma grande variedade de estímulos, incluindo os de natureza química ou física; sendo assim, eles necessitam de um sofisticado aparelho de transdução química (Julius e Basbaum, 2001). Este aparelho de transdução envolve, essencialmente, interações entre receptores de membrana que estão acoplados a canais iônicos e segundo mensageiro. Dentro deste cenário, vários são os estímulos químicos capazes de iniciar estas cascatas de sinalização (Dray *et al.*, 1994).

Entre as substâncias químicas que excitam os nociceptores estão os fosfolípidos, (originados da lise de ácido araquidônico, especialmente as prostaglandina E), histamina, serotonina, bradicinina, citocinas, óxido nítrico, substância P, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), bem como, aminoácidos excitatórios, particularmente o glutamato, e inibitórios, como o ácido gama-amino-butírico (GABA) e a glicina. Também estão envolvidos na transmissão e modulação da dor a acetilcolina, polipeptídeos vasoativos, colecistocinina, enzimas proteolíticas, peptídeos endógenos, dentre outros (Cailliet, 1999; Guyton e Hall, 1996).

A **bradicinina** um mediador inicial da inflamação, possui potente ação vasodilatadora. As ações da bradicinina são mediadas através da ativação de dois tipos de receptores acoplados a proteínas-G, B1 e B2. O receptor B1 é expresso somente como resultado de lesão tecidual ou sinais inflamatórios, enquanto o receptor B2 é expresso constitutivamente. Estudos sugerem que a bradicinina, através dos receptores B1 e B2, está envolvida nas vias de sinalização da dor, especialmente na dor de origem inflamatória (Rupniack *et al.*, 1997, Pesquero *et al.*, 2000; Okuse, 2007).

Citocinas são definidas como polipeptídeos produzidos e liberados pelas células em resposta a estímulos inflamatórios como vírus, parasitas, bactérias e seus produtos, ou em resposta a outras citocinas. Em geral elas são liberadas em uma seqüência controlada a partir de vários tipos celulares e são responsáveis pela produção dos mediadores envolvidos na consolidação dos sinais e sintomas inflamatórios. Estruturalmente as citocinas são moléculas de baixo peso molecular (entre 5 e 14 kD), algumas são glicoproteínas, usualmente sintetizadas na forma de grandes moléculas precursoras que são clivadas para produzir a forma ativa (Verri *et al.*, 2006).

Células residentes, incluindo macrófagos, linfócitos e mastócitos, são componentes dos tecidos que após o reconhecimento de um estímulo inflamatório iniciam a cascata de liberação de citocinas, as quais apresentam papel importante no desenvolvimento da dor inflamatória e neuropática. As primeiras citocinas descritas como participantes dos processos de desenvolvimento da dor foram a interleucina 1 β (IL-1 β) e o fator de necrose tumoral α (TNF α); posteriormente foi demonstrado que as interleucinas 8 (IL-8) e 12 (IL-12) também induzem hipernociceção inflamatória (Ferreira *et al.*, 1988; Cunha *et al.*, 1991; Cunha *et al.*, 1992; Cunha e Ferreira, 2003).

Para limitar as conseqüências da ação prolongada das citocinas pró-inflamatórias a sua liberação é seguida pela liberação de citocinas anti-inflamatórias como as interleucinas 4 (IL-4), 10 (IL-10) e 13 (IL-13). Estas interleucinas anti-inflamatórias modulam os eventos imunes e inflamatórios inibindo a ação e produção das citocinas pró-inflamatórias, com isto elas modulam a resposta dolorosa. A IL-4, além de apresentar efeito analgésico devido a inibição das citocinas pró-inflamatórias inibe a ação da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e a produção da óxido nítrico sintase induzida (iNOS) (Poole *et al.*, 1995; Onoe *et al.*, 1996; Vale *et al.*, 2003; Cunha e Ferreira, 2003).

A **histamina** tem mostrado apresentar um importante papel na transmissão da dor. Neurônios histaminérgicos encontrados no núcleo dorsal da rafe e ACP, os quais se originam do hipotálamo, possuem importante papel na modulação da dor através de receptores

histaminérgicos do tipo H1 e H2. A histamina possui ainda importante papel na antinocicepção induzida por morfina (Hough *et al.*, 1988, 1999; Mobarakeh *et al.*, 2006).

A **serotonina** (5-HT) é liberada pelas plaquetas e interage com, pelo menos, 14 tipos de receptores que estão amplamente distribuídos por diversos tecidos. O receptor 5-HT₃, presente nos gânglios da raiz dorsal e periféricamente, apresenta efeito antinociceptivo, enquanto a administração intratecal de antagonistas do receptor 5-HT₃ bloqueia a analgesia induzida pela 5-HT e produz uma moderada resposta hiperalgésica (Taber *et al.*, 1981; Giordano e Gerstmann, 2004; Okuse, 2007).

A **substância P** (SP) e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina são neuropeptídeos liberados a partir de aferentes nociceptivos primários estando envolvidos na nocicepção tanto a nível periférico quanto central. A ativação dos receptores periféricos da SP (NK1) e do CGRP resulta em comportamentos nociceptivos que são bloqueados por antagonistas específicos. Também já foi demonstrado que a SP e CGRP espinhais estão envolvidos na dor neuropática crônica (Nakamura-Craig e Gill, 1991; Carlton *et al.*, 1996; Banchet *et al.*, 2002; Jang *et al.*, 2004).

O **glutamato** apresenta papel chave na transmissão excitatória de informações a partir dos neurônios sensoriais aferentes primários para os neurônios do corno dorsal. A excitação dos neurônios sensoriais nociceptivos provocada por lesão tecidual ou injúria evoca uma contínua liberação de glutamato, o qual age sobre receptores pós-sinápticos como o N-metil-D-aspartato (NMDA) levando a uma sensibilização central (Chizh, 2002; Okuse, 2007).

O **ácido gama-amino-butírico** e a **glicina** agem como neurotransmissores inibitórios na modulação da transmissão do estímulo nociceptivo. O GABA exerce sua ação via dois tipos de receptores o GABA_A e o GABA_B, ambos amplamente distribuídos no corno dorsal da medula espinhal, especialmente nas lâminas superficiais. Os receptores para glicina, geralmente, encontram-se codistribuídos com receptores GABA_A (Millan, 2002).

As **prostaglandinas** são mediadores lipídicos produzidos pela cicloxigenase, a partir do ácido araquidônico. A inibição da síntese de prostaglandinas é o principal mecanismo de ação analgésica de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (DAINES), através do bloqueio das duas isoformas de cicloxigenase, a COX-1 (constitutiva) e a COX-2 (induzida). Ambas convertem o ácido araquidônico, liberado a partir da membrana das células de tecidos inflamados pela ação da fosfolipase A2, em dois precursores: PGG2 e PGH2. Prostaglandinas isomerases convertem o PGH2 em diferentes prostaglandinas biologicamente ativas (PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂) e tromboxano (Funk, 2001; Zeilhofer, 2007).

As prostaglandinas biologicamente ativas têm papel central na inflamação e na dor, participando de processos que desenvolvem a hiperalgesia e a alodinia. De início acreditava-se que, no que diz respeito aos quadros dolorosos, as PGs agissem somente a nível periférico, no entanto, atualmente, já se tem comprovado que elas agem, pelo menos em parte, a nível central, principalmente na medula espinhal (Ferreira e Lorenzetti, 1996; Samad *et al*, 2001; Vanegas e Schaible, 2001).

Sugere-se que o **óxido nítrico** (NO) apresenta importante papel na transmissão sináptica central e periférica. No sistema nervoso central (SNC) o NO é produzido a partir da L-arginina pela óxido nítrico sintase (NOS). Existem pelo menos três isoformas da NOS: uma induzida (NOSi) e duas constitutivas, as quais estão presentes, sobre condições fisiológicas, no endotélio (NOSe) e nos neurônios (NOSn) (Lamas *et al*, 1992; Miguel e Nunes-de-Souza, 2006).

O óxido nítrico age como segundo mensageiro aumentando a produção de guanosina monofosfatase cíclica (GMPc). Na literatura os efeitos pró e antinociceptivos do NO vêm sendo intensamente discutidos. Estes estudos sugerem que o NO possui um efeito duplo, não somente facilitando a percepção de estímulos dolorosos, a nível espinhal, como também intensificando a inibição descendente após a nocicepção. Doadores de NO e inibidores da síntese de NO reduzem a dor através de mecanismos espinhais que envolvem a ativação da guanilato ciclase, no entanto este efeito depende da dose e do modelo usado, pois em altas doses, doadores de NO podem intensificar a dor (Meller e Gebhart, 1993; Holthusen e Arndt, 1994; Gao e Qiao, 1998; Sousa e Prado, 2001; Hoheisel *et al.*, 2005).

Nas últimas décadas, tem-se obtido avanços consideráveis na compreensão sobre a biogênese dos diversos **peptídeos opióides endógenos**, sua distribuição anatômica e características de seus receptores. Os principais grupos de peptídeos opióides são as encefalinas, dinorfinas e β -endorfinas. Com relação aos diversos subtipos de receptores já se tem identificado os tipos μ (1 e 2), δ (1 e 2) e κ (1, 2 e 3). Estes receptores opióides e sistemas de peptídeos endógenos estão significativamente implicados nos processos antinociceptivos, sendo encontrados em regiões críticas para a modulação da dor, tais como a área cinzenta periaquedutal, núcleos hipotalâmicos, sistema límbico e núcleo magno da rafe (Ossipov e Gebhart, 1986; Pan e Fields, 1996; Przewlocki e Przewlocka, 2001; Hernández-Delgado e Cruz, 2006).

O **sistema noradrenérgico** é considerado como o principal sistema de controle descendente da dor originado do tronco cerebral, sendo que a noradrenalina liberada a partir dos axônios descendentes controla a atividade dos neurônios nociceptivos no corno dorsal. Os receptores opióides tipo μ , juntamente com os receptores adrenérgicos α_2 interagem na modulação do processo nociceptivo. A ativação de α_2 -adrenoceptores no SNC produz analgesia em numerosos modelos comportamentais de dor, incluindo o teste da formalina. Contudo, na periferia, os mecanismos adrenérgicos parecem ser pró-nociceptivos, embora alguns dados sejam conflitantes (Hamalainen e Pertovaara, 1995; Hong e Abbott, 1996; Millan, 1999; Mansikka *et al.*, 2002).

1.5.3- Mecanismos de modulação da dor

Vias descendentes originadas na área cinzenta periaquedutal (ACP), núcleo magno da rafe (NMR), núcleos da formação reticular, córtex cerebral, hipotálamo e outras estruturas cerebrais desempenham importante papel na modulação e integração de mensagens nociceptivas na coluna dorsal (Willis e Westlund, 1997).

A estimulação na ACP causa inibição de neurônios nociceptivos do corno dorsal, incluindo células do trato espinotalâmico. Uma das estruturas chaves na via de analgesia

descendente originada na ACP é o NMR e a formação reticular. A ACP tem conexão excitatória com o NMR, sugerindo que o efeito antinociceptivo da estimulação na ACP é mediada pelo NMR (LeBars *et al.*, 1979; Willis *et al.*, 1984; Carstens *et al.*, 1990).

A inibição de circuitos nociceptivos do corno dorsal é mediada por um grande número de neurotransmissores, incluindo aminoácidos inibitórios, como o GABA e a glicina, sendo que o GABA está envolvido na inibição pré e pós-sináptica, enquanto a glicina restringe-se à inibição pós-sináptica (Lin *et al.*, 1996). Já as encefalinas atuam nos pontos neurais periféricos, nos gânglios da raiz dorsal, na medula espinhal, no mesencéfalo, no hipotálamo, na ACP e no bulbo rostral (Cailliet, 1999).

Embora as monoaminas sejam consideradas como os principais neurotransmissores envolvidos nas vias descendentes, a serotonina também desempenha papel chave nesta via, assim como a noradrenalina e a acetilcolina. Além disto, a presença de neuropeptídeos excitatórios e colecistocinina em projeções supraespinhais também sugere a participação destes na via inibitória descendente (Millan, 1995, 1999; Gao *et al.*, 1997).

1.6- Inflamação

Inflamação é a maior reação de imunidade natural (congénita), sendo uma reação de defesa do organismo contra a penetração de agentes infecciosos, entrada de antígenos e danos celulares. Desta forma, a inflamação é um processo biológico fundamental e representa um dos principais sinais de doença (Kulinsky, 2007).

A inflamação resulta da liberação de uma complexa mistura de citocinas e outros agentes neuroativos, a partir de células inflamatórias ou não-inflamatórias. Dano direto ao tecido resulta na liberação de ATP e prótons a partir das células lesadas. Mastócitos liberam aminas (serotonina e histamina) e metabólitos do ácido araquidônico, incluindo prostaglandinas.

Macrófagos adicionam citocinas e fatores de crescimento à “sopa inflamatória” (Dray, 1995; Costigan e Woolf, 2000).

As citocinas possuem um papel central na regulação do processo inflamatório, na maioria das vezes sua ação é parácrina ou autócrina, mas elas também circulam no plasma sanguíneo. Normalmente elas são representadas pelo fator de crescimento β (TGF- β), fator de necrose tumoral (TNF α), interleucina 1 (IL-1) e 6 (IL-6) (Kulinsky, 2007).

O processo inflamatório está intimamente ligado à dor. Alguns dos agentes inflamatórios, como prótons e adenosina trifosfato (ATP), podem diretamente despolarizar aferentes primários, contudo, a maioria dos mediadores inflamatórios sensibiliza os terminais nervosos ao invés de ativá-los diretamente. Esta sensibilização periférica ocorre inicialmente devido a modificações pós-translacionais de receptores chave e de canais para íons. No entanto, mudanças pós-transcricionais também podem ocorrer (Woolf, 1983; Cesare e McNaughton, 1997).

Os mediadores inflamatórios ativam os receptores locais da dor e terminais nervosos. A estimulação destes receptores locais estimula as fibras C e A-delta, sendo responsáveis pela hipersensibilidade no local da lesão. Após a lesão tecidual, a expressão de canais de sódio nas fibras nervosas é significativamente alterada, o que leva a uma anormal excitabilidade dos neurônios sensoriais. Os impulsos nervosos que chegam ao corno dorsal estimulam a liberação de substância P. A presença de substância P e outras proteínas inflamatórias como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, neurocinina A e peptídeo intestinal vasoativo inibem a inibição induzida por magnésio e possibilita a ação de agentes inflamatórios excitatórios, como é o caso do glutamato e aspartato, para ativar receptores NMDA no corno dorsal. Isto resulta em um aumento considerável na estimulação que chega ao corno dorsal a partir da periferia (Omogui, 2007).

1.6.1- A resposta inflamatória: eventos vasculares e celulares

A reação inflamatória pode ser dividida em duas fases, a primeira fase é denominada fase aguda e a seguir, dependendo do estímulo ser persistente ou não, a reação pode cronificar-se. Durante o desenvolvimento da fase aguda ocorrem fenômenos vasculares e celulares que levam ao surgimento dos quatro sinais cardeais da inflamação, que são calor, rubor, tumor e dor, já descritos por Cornelius Celsus no início da era cristã. A perda da função do tecido, ou órgão lesado, foi introduzida posteriormente por Virchow, como quinto sinal cardeal (Rocha e Silva, 1978; Kulinsky, 2007). Além da resposta local a inflamação, ocorre ainda uma resposta sistêmica, que consiste na produção aumentada de leucócitos; febre, que aumenta a resistência a infecções; e alterações nos níveis de várias proteínas citoplasmáticas (Abbas e Lichtman, 2005).

Os eventos vasculares da inflamação consistem em dilatação das pequenas arteríolas, resultando em aumento do fluxo sanguíneo (rubor), com elevação da temperatura corporal (calor). O aumento da permeabilidade das vênulas pós-capilares ocasiona o extravasamento de proteínas para o tecido, o qual, somado ao aumento da pressão de filtração, leva à formação de edema (tumor) (Rang *et al.*, 2001).

Entre os principais mediadores responsáveis pela vasodilatação durante o processo inflamatório estão a histamina, a bradicinina, as prostaglandinas da série E e a prostaciclina. O óxido nítrico é um dos fatores de relaxamento vascular derivados do endotélio que participa do controle do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular induzida pelo fator ativador de plaquetas (PAF) e bradicinina (Rang *et al.*, 2001; Abbas e Lichtman, 2005).

Os eventos celulares da inflamação são resultado da ação de células presentes no tecido lesado, tais como células endoteliais vasculares, mastócitos e macrófagos residentes, e de células que têm acesso ao local através do sangue como é o caso dos leucócitos polimorfonucleares e mononucleares (Rang *et al.*, 2001).

Os mastócitos liberam a histamina, heparina, leucotrienos, fator de agregação plaquetária (PAF), fator de crescimento neuronal e algumas interleucinas. Os macrófagos também estimulam a inflamação aguda através da secreção de citocinas, principalmente TNF e IL-1, e quimiocinas, além de mediadores lipídicos de vida curta tais como PAF, prostaglandinas e leucotrienos. Em conjunto, os mediadores secretados por macrófagos, produzem uma inflamação local que é rica em neutrófilos (Rang *et al.*, 2001; Abbas e Lichtman, 2005).

Os neutrófilos polimorfos constituem os primeiros leucócitos sanguíneos a alcançar a área da reação inflamatória. De forma geral, os eventos envolvidos na migração celular para o foco inflamatório requer a interação entre moléculas de aderência sobre a célula endotelial e segue os seguintes passos: deslizamento dos leucócitos pela parede do vaso (*rolling*); ativação dos leucócitos por ação de agentes quimiotáticos ou integrinas; adesão de alta afinidade devido à mudança conformacional do leucócito por ação de integrinas; migração dos leucócitos do lúmen vascular para o espaço extravascular (Smith *et al.*, 1988; Bevilacqua *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1991).

1.7- Modelos experimentais para estudo da dor e da inflamação aguda

1.7.1- Modelos de nociceção

Para que um modelo experimental de dor seja considerado válido ele precisa apresentar algumas características. Precisa ser específico (o estímulo nociceptivo deve eliciar uma resposta que possa ser diferenciada em nociceptiva e não-nociceptiva), sensível, realizável e reproduzível. Dentre os modelos padrões para o estudo da dor, podem-se destacar os testes da placa quente, das contorções abdominais e da formalina.

O teste da placa quente consiste em colocar o animal sobre uma placa pré-aquecida. A placa, quando aquecida a uma temperatura constante, elicit os comportamentos de lambar ou

morder as patas e/ou pular, sendo que ambos os comportamentos são considerados como respostas supraespinhais integradas. Temperaturas superiores a 50 °C tornam este teste específico para antinociceptivos centrais, pois neste modelo somente agentes opióides exercem seu efeito analgésico (via receptores espinhais e supraespinhais). Por outro lado, com uma temperatura menor ou igual a 50 °C analgésicos não esteroidais também exercem seu efeito analgésico (Abbott e Melzack, 1982; Le Bars *et al.*, 2001).

O teste das contorções abdominais caracteriza-se pela injeção intraperitoneal de agentes irritantes. Esta administração provoca um comportamento estereotipado chamado contorção abdominal, que consiste na contração da musculatura esquelética abdominal juntamente com a extensão de uma ou ambas as patas posteriores, além de uma diminuição na atividade motora. Estes comportamentos são considerados reflexos e evidenciam uma dor visceral, no entanto, dado o fato bem estabelecido de que o peritônio parietal recebe inervação somática, é provável que esta dor não seja somente visceral (Le Bars *et al.*, 2001).

O teste das contorções possui a vantagem de ser bastante sensível, evidenciando o efeito mesmo de analgésicos fracos, por outro lado ele apresenta pouca especificidade, uma vez que drogas hipotensoras, anti-histamínicas e depressoras do sistema nervoso central são capazes de abolir as contorções, assim, um resultado positivo neste teste não significa, necessariamente que o fármaco apresenta efeito analgésico (Yeh, 1986; Takahashi e Paz, 1987; Pettibone e Mueller, 1989).

O ácido acético é uma das inúmeras substâncias capazes de desencadear a resposta de contorção abdominal. Tem sido descrito que as contorções induzidas pelo ácido acético é resultado de uma inflamação aguda relacionada ao aumento nos níveis de prostaglandinas (PG E₂ e PG F_{2a}). Além das prostaglandinas, algumas citocinas, tais como o TNF α , também estão envolvidas na resposta nociceptiva ao ácido acético. Alguns estudos também demonstram que componentes da via L-arginina/óxido nítrico/GMPc podem participar do processo nociceptivo induzido pela aplicação do ácido acético, via ação periférica e central (Derardt *et al.*, 1980; Bighetti *et al.*, 1999; Abacioglu *et al.*, 2000; Le Bars *et al.*, 2001).

A injeção subcutânea de formalina age como um estímulo nóxio e induz uma dor difusa, moderada e de longa duração que possui profunda conexão com uma lesão tissular, o que faz deste teste um válido modelo de dor clínica. Após a injeção de formalina na pata o comportamento nociceptivo pode ser dividido em duas fases, uma resposta rápida (primeira fase) e uma resposta tardia prolongada (segunda fase) (Dubuisson e Dennis, 1977; Heapy *et al.*, 1987; McCall *et al.*, 1996).

Enquanto a resposta da primeira fase deve-se a ação direta sobre as terminações nociceptivas periféricas (especialmente pela ativação das fibras C), a segunda fase está relacionada tanto com mudanças funcionais no corno dorsal (induzidas pelos inputs aferentes iniciais durante a primeira fase), quanto com o desenvolvimento de inflamação periférica (Dickenson e Sullivan, 1987; Hunskaar e Hole, 1987; Shibata *et al.*, 1989).

1.7.2- Modelo de inflamação aguda

A inflamação aguda induzida pela injeção intra-plantar de vários agentes flogísticos na pata de roedores tem sido um modelo usado com bastante sucesso para a avaliação de agentes anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais (Cole *et al.*, 1994). Dentre as substâncias flogísticas capazes de provocar edema podemos citar a dextrana, a carragenina, a serotonina, a histamina, a bradicinina, o glutamato, dentre outros (DiRosa *et al.*, 1971; Katz *et al.*, 1984; Lo *et al.*, 1982; Beirithi *et al.*, 1998; Cunha *et al.*, 2001; Maleki *et al.*, 2005)

A carragenina, um mucopolissacarídeo, é talvez o agente flogístico mais utilizado estando tipicamente associado com a ativação da via das ciclo-oxigenases. A injeção intraplantar de carragenina elicitava uma resposta inflamatória caracterizada por aumento no volume da pata, infiltração de neutrófilos, aumento nos níveis de vários mediadores no exudato das patas e pelo desenvolvimento de hiperalgesia a estímulo térmicos e mecânicos (Leme *et al.*, 1973; Omote *et al.*, 2001).

Tem sido sugerida a existência de duas fases, claramente distintas, na resposta inflamatória induzida por carragenina. A primeira inicia-se logo após a aplicação e mantém-se por uma hora, enquanto a segunda fase tem início com uma hora e mantém-se por, no mínimo, três horas. A primeira fase da resposta inflamatória induzida por carragenina deve-se a liberação de serotonina e histamina enquanto a segunda fase deve-se a uma significativa liberação de prostaglandinas (DiRosa *et al.*, 1971; Maleki *et al.*, 2005).

A dextrana é um dos diversos agentes capazes de induzir a degranulação dos mastócitos e conseqüentemente levar a liberação da histamina e serotonina que estão pré-formadas nos grânulos dos mastócitos. A histamina é responsável pela dor local, bem como a ativação do sistema complemento e células endoteliais, recrutamento de leucócitos e formação de edema. Estudos recentes têm mostrado que a serotonina pode modular a resposta inflamatória através de sua ação sobre células do sistema imune e de outros mediadores (Maleki *et al.*, 2005; Paula, 2006; Stulzer *et al.*, 2006).

Levando em consideração o fato de que o custo para desenvolver medicamentos sintéticos ou semissintéticos é muito elevado e demorado, e que os trabalhos de pesquisa com plantas medicinais, via de regra, originam medicamentos em menor tempo, com custos muitas vezes inferiores e, conseqüentemente, mais acessíveis à população tem crescido o interesse pelo estudo das drogas potenciais, ou seja, de plantas utilizadas pela medicina popular.

Estudos experimentais realizados por Canuto (2005), em nosso laboratório (Laboratório de Fisiologia Experimental), demonstraram o efeito antinociceptivo e antiedematogênico do OECa utilizando os modelos de contorções abdominais, formalina, placa quente e edemas induzidos por dextrana, carragenina, serotonina e óleo de croton. Neste mesmo trabalho foi demonstrado o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno nos modelos de contorções abdominais e formalina. Desta forma, os objetivos deste trabalho são os seguintes.

2.0- OBJETIVOS

2.1- Gerais

Investigar os possíveis mecanismos envolvidos na ação antinociceptiva do OECa e de seus constituintes, alfa-pineno e trans-cariofileno.

Identificar a atividade antiedematogênica do OECa, trans-cariofileno e alfa-pineno.

2.2- Específicos

Avaliar o efeito do alfa-pineno sobre modelos de nocicepção (contorções abdominais, formalina e placa quente).

Avaliar o efeito do trans-cariofileno no teste da placa quente.

Avaliar, no efeito antinociceptivo do OECa e trans-cariofileno:

- 1) a participação do sistema opióide
- 2) a participação da via L-arginina - Óxido Nítrico
- 3) a participação dos alfa-adrenoreceptores
- 4) a participação da via glutamatérgica

Identificar o efeito do OECa, trans-cariofileno e alfa-pineno sobre modelos de edema de pata induzidos por dextrana, carragenina, serotonina, bradicinina, histamina e glutamato.

3.0- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Animais

Foram utilizados camundongos “Swiss” (machos e fêmeas) pesando entre 25 e 30 g e ratos Wistar fêmeas pesando entre 150 e 250 g; provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará - UFC e do Biotério Central da Faculdade Christus. Estes foram mantidos no Biotério da Universidade Estadual do Ceará - UECE, nos dias antecedentes ao experimento. Os animais foram mantidos à temperatura de 23 ± 3 °C, em ciclo claro/escuro de 12 h e tratados com água e ração *ad libitum*. Os experimentos foram desenvolvidos durante a fase clara do ciclo e realizados de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório e considerações éticas para investigações de dor experimental em animais conscientes (Zimmermann, 1983), seguindo a Lei 6638/1979 dos Princípios éticos de experimentação animal.

3.2- Óleo essencial e seus constituintes

O presente projeto foi desenvolvido com o óleo essencial de *Croton argyrophyloides* (OECa) e seus constituintes trans-cariofileno (terceiro maior constituinte da amostra de OECa utilizada por Canuto, 2005) e alfa-pineno (maior constituinte da amostra de OECa utilizada por Canuto, 2005 e o segundo maior constituinte da amostra de OECa aqui utilizada). O OECa foi extraído de plantas coletadas em abril de 2005, na Serra da Ibiapaba, próximo a cidade de Viçosa, Ceará. Sua extração foi feita no laboratório de química da UECE pela professora Selene Maia de Moraes, pelo método de hidrodestilação a vapor. A composição do óleo usado foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa no Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da UFC e contém (em % do peso do óleo) espatulenol, 34,37; alfa-pineno, 18,98; 1,8-cineol, 12,99; óxido de cariofileno, 7,63; beta-felandreno, 5,05 como

constituintes majoritários. O trans-cariofileno e o alfa-pineno foram obtidos da Sigma Chemical CO.

3.3- Drogas e dissoluções

As soluções do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno foram preparadas em solução salina contendo Tween 80 0,1% v/v, que se constituiu o veículo. As soluções de OECA, trans-cariofileno, alfa-pineno e de veículo foram administradas por via oral (v.o.) através de sonda orogástrica, 0,1 ml/10 g de peso do animal.

As soluções de ácido acético, formalina, glutamato, morfina, naloxona, L-arginina, N^G-nitro-arginina, prazosin, fenilefrina, ioimbina, dextrana, carragenina, serotonina, bradicinina e histamina foram preparadas em solução salina. A indometacina foi diluída em bicarbonato 5%. O ácido acético e o formaldeído foram obtidos da Merck, e as demais drogas foram todas procedentes da Sigma Chemical CO.

3.4- Avaliação do efeito antinociceptivo do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno

A metodologia aqui proposta visa ampliar os conhecimentos acerca do efeito antinociceptivo e antiedematogênico do OECA e do trans-cariofileno, bem como caracterizar o efeito antinociceptivo e antiedematogênico do alfa-pineno.

3.4.1- Efeito do alfa-pineno no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

A metodologia utilizada seguiu o modelo proposto por Koster e colaboradores, 1959, para camundongos. As contorções abdominais foram induzidas em camundongos “Swiss”

machos através da administração intraperitoneal de 0,1ml/10g de peso do animal de ácido acético 0,6% (v/v). Após a aplicação do ácido acético os animais foram colocados em bacias individuais e foi realizada a contagem do número de contorções abdominais durante 20 minutos, sendo iniciada a contagem 10 minutos após a injeção do ácido. As contorções consistem na contração da musculatura esquelética abdominal juntamente com a extensão de uma ou ambas as patas posteriores.

Nos grupos experimentais os animais receberam, via oral, 1 hora antes da aplicação do ácido acético, alfa-pineno (10 – 300 mg/Kg). Os grupos controle receberam veículo, via oral, 1 hora antes da aplicação do ácido acético, ou indometacina (10 mg/Kg, i.p.) 30 minutos antes da aplicação do ácido.

3.4.2- Efeito do OECa e alfa-pineno no teste da formalina

O teste da formalina consistiu na injeção de formalina (20µl de solução 2,5% v/v) na região plantar da pata posterior direita do animal (camundongo “Swiss” macho). Logo após a aplicação da formalina, os animais foram colocados, individualmente, sob funil de vidro invertido, ao lado de um espelho, a fim de facilitar a observação. Foi registrado o tempo transcorrido (em segundos) que o animal lambeu a pata durante as fases inicial (0-5 min) e tardia (15-30 min.) (Hunskaar *et al.*, 1985; Tjølsen *et al.*, 1992). O teste foi realizado à temperatura ambiente de 22-23°C e na ausência de fatores experimentais que pudessem afetar o fluxo sanguíneo periférico, devido a grande sensibilidade da resposta na segunda fase (tardia).

Nos grupos experimentais os animais receberam, via oral, 1 hora antes da aplicação da formalina, alfa-pineno (10 – 300 mg/Kg). Os grupos controle receberam veículo, via oral, 1 hora antes da aplicação da formalina, ou morfina (5 mg/Kg, s.c.) 30 minutos antes da aplicação da formalina.

Para confirmar o efeito antinociceptivo da amostra de OECA usada neste trabalho foi realizado o teste da formalina. Nos grupos experimentais os animais receberam, via oral, 1 hora antes da aplicação da formalina, OECA (30 – 300 mg/Kg). Os grupos controle receberam veículo, via oral, 1 hora antes da aplicação da formalina ou morfina (5 mg/Kg, s.c.) 30 minutos antes da aplicação da formalina.

3.4.3- Efeito do alfa-pineno e trans-cariofileno no teste da placa quente

Os camundongos “Swiss” machos foram colocados sobre uma placa pré-aquecida ($55 \pm 1^{\circ}\text{C}$) e foi registrado o tempo (em segundos) que o animal levou para manifestar uma resposta ao estímulo nociceptivo. Foram consideradas respostas ao estímulo nociceptivo os atos de lamber ou morder as patas e/ou saltar. Os animais foram submetidos a um pré-teste no dia anterior ao do experimento, sendo selecionados para o teste aqueles que apresentaram uma resposta nociceptiva no intervalo de 8 a 12 segundos (Eddy e Leimbach, 1953).

Os grupos controle receberam veículo, via oral, ou morfina (5 mg/Kg, s.c.), e os grupos experimentais receberam alfa-pineno ou trans-cariofileno (10 – 300 mg/Kg), via oral. Todos os animais foram colocados sobre a placa aquecida em intervalos de 60 min até 240 min após o início do teste. O tempo máximo de permanência do animal sobre a placa não excedeu 30 s para prevenir possíveis lesões teciduais.

3.4.4- Efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no teste do glutamato

O teste do glutamato consistiu na injeção de glutamato (6,8 $\mu\text{mol}/20 \mu\text{L}$) na pata posterior direita de camundongos “Swiss” machos. Logo após a aplicação do glutamato, os animais foram colocados, individualmente, sob funil de vidro invertido, ao lado de um espelho, a fim de facilitar a observação. Foi registrado o tempo transcorrido (em segundos) em

que o animal lambeu a pata durante os 15 min após a aplicação do glutamato (Beirithi *et al.*, 1998).

Nos grupos experimentais os animais receberam, via oral, 1 hora antes da aplicação do glutamato, OECA, alfa-pineno ou trans-cariofileno (30 – 600 mg/Kg). O grupo controle recebeu veículo, via oral, 1 hora antes da aplicação do glutamato.

3.5- Estudo dos possíveis mecanismos de ação antinociceptiva do OECA e do trans-cariofileno

3.5.1- Participação do sistema opióide

Para avaliar a participação do sistema opióide sobre o efeito antinociceptivo do OECA e do trans-cariofileno foram utilizados camundongos “Swiss” machos. Grupos distintos de animais foram pré-tratados com antagonista opióide não seletivo naloxona (13,7 $\mu\text{mol/Kg}$, i.p) (5 mg/Kg) 15 min antes da administração do OECA (300 mg/Kg, v.o.), trans-cariofileno (300 mg/Kg, v.o.), veículo ou da injeção de morfina (13,3 $\mu\text{mol/Kg}$, s.c.) (5 mg/Kg) (Santos *et al.*, 1995; Vaz, *et al.*, 1996). Decorridos 60 min da administração do OECA, do trans-cariofileno ou do veículo, e 30 min da injeção de morfina foram avaliados os efeitos destes tratamentos em relação a nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina (conforme discutido no item 3.4.2).

Os animais dos grupos controle foram tratados com OECA (300 mg/Kg, v.o.) ou trans-cariofileno (300 mg/Kg, v.o.), 60 min antes da injeção de formalina, com morfina (5 mg/Kg, s.c.) ou naloxona (5 mg/Kg, i.p.) 30 min antes da injeção da formalina.

3.5.2- Participação da via L-arginina-óxido nítrico

A fim de investigar um possível envolvimento da via L-arginina/óxido nítrico no mecanismo de ação do efeito antinociceptivo do OECa e do trans-cariofileno camundongos “Swiss” machos receberam o precursor do óxido nítrico, a L-arginina (3,4 mmol/Kg, i.p.), e após 15 min foi administrado OECa (300 mg/Kg, v.o.), trans-cariofileno (300 mg/kg, v.o.), inibidor da enzima óxido nítrico sintetase N^G -nitro--arginina (L-NOARG, 342 mmol/Kg, i.p.) ou veículo (Santos *et al.*, 1995; Vaz *et al.*, 1996). Decorridos 60 min da aplicação do OECa, do trans-cariofileno, ou do veículo, e 30 min após o tratamento com L-NOARG, os animais foram analisados sob o teste da formalina (conforme discutido no item 3.4.2).

Os animais dos grupos controle foram tratados com OECa (300 mg/Kg, v.o.) ou trans-cariofileno (300 mg/Kg, v.o.), 60 min antes da injeção de formalina, com L-NOARG (342 mmol/Kg, i.p.) ou L-arginina (3,4 mmol/Kg, i.p.), 30 min antes da injeção da formalina.

3.5.3- Participação dos alfa-adrenoreceptores

Para averiguar o possível envolvimento dos alfa-adrenoreceptores do tipo α_1 no efeito antinociceptivo do OECa e trans-cariofileno os camundongos “Swiss” machos foram pré-tratados com o antagonista de adrenoreceptores α_1 prazosin (0,4 μ mol/Kg, i.p.) e após 15 min, os animais receberam OECa (300 mg/Kg, v.o.), trans-cariofileno (300 mg/kg, v.o.), veículo, ou o agonista dos adrenoreceptores α_1 fenilefrina (49,1 μ mol/Kg, i.p.) (Santos *et al.*, 1995; Vaz, et al., 1996). Decorridos 60 min da administração do OECa, trans-cariofileno, ou veículo e 30 min da aplicação de fenilefrina os animais foram avaliados sob o teste da formalina (conforme discutido no item 3.4.2).

Para averiguar o possível envolvimento dos alfa-adrenoreceptores do tipo α_2 no efeito antinociceptivo do OECa e trans-cariofileno os camundongos “Swiss” machos foram pré-

tratados com o antagonista de adrenoceptores α_2 ioimbina (0,4 $\mu\text{mol/Kg}$, i.p.) e após 15 min, os animais receberam OECA (300 mg/Kg, v.o.), trans-cariofileno (300 mg/kg, v.o.), ou veículo. Decorridos 60 min da administração do OECA, trans-cariofileno, ou veículo os animais foram avaliados sob o teste da formalina (conforme discutido no item 3.4.2).

Os animais dos grupos controle foram tratados com OECA (300 mg/Kg, v.o.), trans-cariofileno (300 mg/Kg, v.o.) ou veículo, 60 min antes da injeção de formalina, com prazosin (0,4 $\mu\text{mol/Kg}$, i.p.), fenilefrina (49,1 $\mu\text{mol/Kg}$, i.p.) ou ioimbina (0,4 $\mu\text{mol/Kg}$, i.p.) 30 min antes da injeção de formalina.

3.6- Avaliação do efeito antiedematogênico do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno

3.6.1- Efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato

Para avaliar o efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato camundongos “Swiss” machos foram tratadas, por via oral, com OECA, trans-cariofileno ou alfa-pineno (30 - 600 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de glutamato (6,8 $\mu\text{mol}/20 \mu\text{L}$) na pata posterior direita do animal. Após 40 min da aplicação de glutamato os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e as patas posteriores foram cortadas. A diferença entre o peso (em mg) da pata tratada com glutamato e da pata não-tratada foi considerada como índice de edema (Beirith, 1998).

3.6.2- Efeito do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno no edema de pata induzido por dextrana

Para avaliar o efeito do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno no edema de pata induzido por dextrana ratos Wistar fêmeas foram tratadas, por via oral, com OECA, trans-cariofileno, alfa-pineno (100 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de 0,1 mL de dextrana 1 % na pata posterior direita do animal. O volume da pata direita foi medido imediatamente após a injeção de dextrana e nos tempos de 30, 60, 120, 180 min após a aplicação do agente flogístico (Katz *et al.*, 1984; Lo *et al.*, 1982). O edema da pata foi mensurado por meio de um pletismômetro (Ugo Basile) e foi expresso como a diferença de volume da pata direita nos diversos tempos avaliados e o volume da pata direita imediatamente após a injeção de dextrana.

3.6.3- Efeito do OECA e alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina

Para avaliar o efeito do OECA e alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina camundongos “Swiss” fêmeas foram tratadas, por via oral, com OECA, alfa-pineno (30 - 300 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de 50 µL de carragenina (300 µg/pata) na região plantar da pata posterior direita do animal. O volume da pata direita foi medido imediatamente após a injeção de carragenina e nos tempos de 60, 120, 180 e 240 min após a aplicação do agente flogístico (Cunha *et al.*, 2001). O edema da pata foi mensurado por meio de um pletismômetro (Ugo Basile) e foi expresso como a diferença de volume da pata direita nos diversos tempos avaliados e o volume da pata direita imediatamente após a injeção de carragenina.

3.6.4- Efeito do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno no edema de pata induzido por serotonina

Para avaliar o efeito do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno no edema de pata induzido por serotonina camundongos “Swiss” fêmeas foram tratadas, por via oral, com OECA, trans-cariofileno, alfa-pineno (30 - 300 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de 50 µL de serotonina (1 µg/pata) na região plantar da pata posterior direita do animal. O volume da pata direita foi medido imediatamente após a injeção de serotonina e nos tempos de 30, 60 e 90 min após a aplicação do agente flogístico (Cunha *et al.*, 2001). O edema da pata foi mensurado por meio de um pletismômetro (Ugo Basile) e foi expresso como a diferença de volume da pata direita nos diversos tempos avaliados e o volume da pata direita imediatamente após a injeção de serotonina.

3.6.5- Efeito do OECA e alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina

Para avaliar o efeito do OECA e alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina camundongos “Swiss” fêmeas foram tratadas, por via oral, com OECA, alfa-pineno (10 - 100 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de 50 µL de bradicinina (3 nmol/pata) na região plantar da pata posterior direita do animal. O volume da pata direita foi medido imediatamente após a injeção de bradicinina e nos tempos de 10, 20, 30 e 60 min após a aplicação do agente flogístico (Cunha *et al.*, 2001). O edema da pata foi mensurado por meio de um pletismômetro (Ugo Basile) e foi expresso como a diferença de volume da pata direita nos diversos tempos avaliados e o volume da pata direita imediatamente após a injeção de bradicinina.

3.6.6- Efeito do OECa e alfa-pineno no edema de pata induzido por histamina

Para avaliar o efeito do OECa e alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina camundongos “Swiss” fêmeas foram tratadas, por via oral, com OECa, alfa-pineno (10 - 100 mg/Kg) ou veículo 60 min antes da injeção intraplantar de 50 μ L de histamina (50 nmol/pata) na região plantar da pata posterior direita do animal. O volume da pata direita foi medido imediatamente após a injeção de histamina e nos tempos de 15, 30, 45, 60 e 120 min após a aplicação do agente flogístico (Cunha *et al.*, 2001). O edema da pata foi mensurado por meio de um pletismômetro (Ugo Basile) e foi expresso como a diferença de volume da pata direita nos diversos tempos avaliados e o volume da pata direita imediatamente após a injeção de histamina.

3.7- Análise estatística

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média, onde n representa o número de experimentos. São considerados estatisticamente diferentes os resultados que apresentarem probabilidade de ocorrência da hipótese de nulidade menor que 5 % ($p < 0.05$). Para comparação das médias serão utilizados ANOVA e testes paramétricos e não paramétricos.

4.0-RESULTADOS

4.1- Avaliação do efeito antinociceptivo do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno

4.1.1- Efeito do alfa-pineno no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

Como pode ser observado na **FIGURA 3** a administração oral do α -pineno reduziu significativamente o número de contorções abdominais induzidas pela administração intraperitoneal de ácido acético (o efeito do α -pineno no teste das contorções abdominais mostrou-se dose-dependente), apresentando melhor efeito na dose de 30 mg/Kg, reduzindo para $26,8 \pm 3,3$ (cerca de 53,5 %) o número de contorções que foi de $56,1 \pm 3,0$ no grupo controle ($p < 0,05$, ANOVA - Duncan). Para as doses de 100 e 300 mg/Kg as reduções foram respectivamente de 35,7 e 39, 2 % no número de contorções ($p < 0,05$, ANOVA - Boferroni).

A indometacina (10 mg/kg), droga que bloqueia a síntese de prostaglandinas, aqui utilizada como controle positivo, diminuiu em aproximadamente 99% o número de contorções abdominais em relação ao controle ($p < 0,05$, ANOVA - Duncan).

4.1.2- Efeito do OECA e alfa-pineno no teste da formalina

De acordo com a **FIGURA 4** podemos observar que a administração oral do OECA apresentou significativa ação antinociceptiva, em ambas as fases do teste da formalina, na dose de 300 mg/Kg. Na primeira fase (**FIGURA 4A**), reduziu o tempo de lambida de $58,6 \pm 6,2$ s no grupo controle para $31,0 \pm 5,3$ s, alcançando uma inibição significativa de cerca de 46 % ($p < 0,05$, teste T). Na segunda fase (**FIGURA 4B**) a diminuição no tempo de lambida foi de $151,8 \pm$

14,6 s no grupo controle, para $37,8 \pm 19,3$ s, alcançando uma significativa inibição de cerca de 75 % ($p < 0,05$, teste T).

Na **FIGURA 5A** podemos observar o efeito da administração oral do α -pineno na primeira fase (fase neurogênica) do teste da formalina. Nesta fase do teste o α -pineno mostrou uma ação antinociceptiva dependente da dose, apresentando maior efeito em doses menores e perdendo este efeito quando aplicado em doses mais elevadas. O melhor efeito encontrado foi na dose de 10 mg/Kg, onde a redução no tempo de lambida da pata foi de $62,6 \pm 4,1$ s no grupo controle para $26,6 \pm 3,2$ s, alcançando uma inibição de cerca de 58,0 % ($p < 0,05$, ANOVA - Dunn). Na dose de 30 mg/Kg a redução também foi significativamente diferente do controle, chegando a 45, 2 % ($p < 0,05$, ANOVA - Dunn). A partir da dose de 100 mg/Kg não foi possível observar nenhuma ação antinociceptiva do α -pineno. Na **FIGURA 5B** podemos observar que a administração oral do α -pineno não apresentou efeito antinociceptivo na segunda fase (fase inflamatória) do teste da formalina.

A morfina (5 mg/Kg), usada como controle positivo tanto na avaliação do efeito antinociceptivo do OECa quanto do α -pineno, apresentou efeito antinociceptivo em ambas as fases do teste da formalina, reduzindo o tempo de lambida em 98 % na primeira fase e 94 % na segunda fase.

Efeito do alfa-pineno no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético

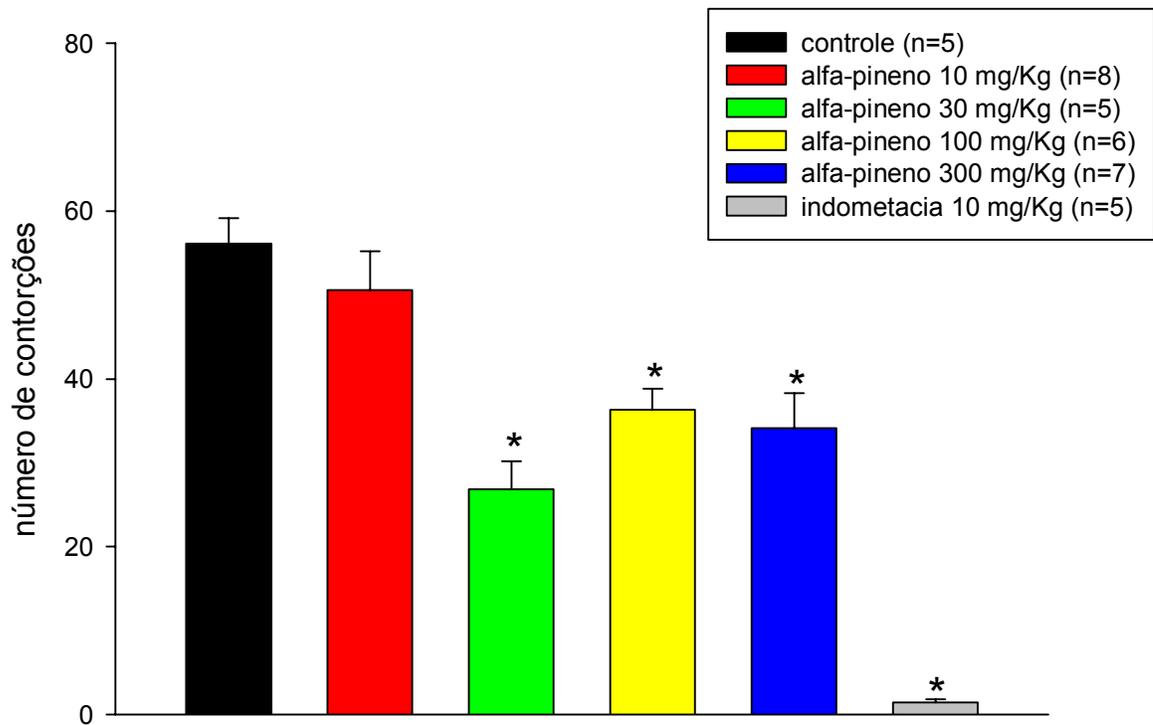


FIGURA 3: Efeito antinociceptivo do alfa-pineno, administrado por via oral, no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético. As colunas representam a média do número de contorções e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do OECa no teste da formalina

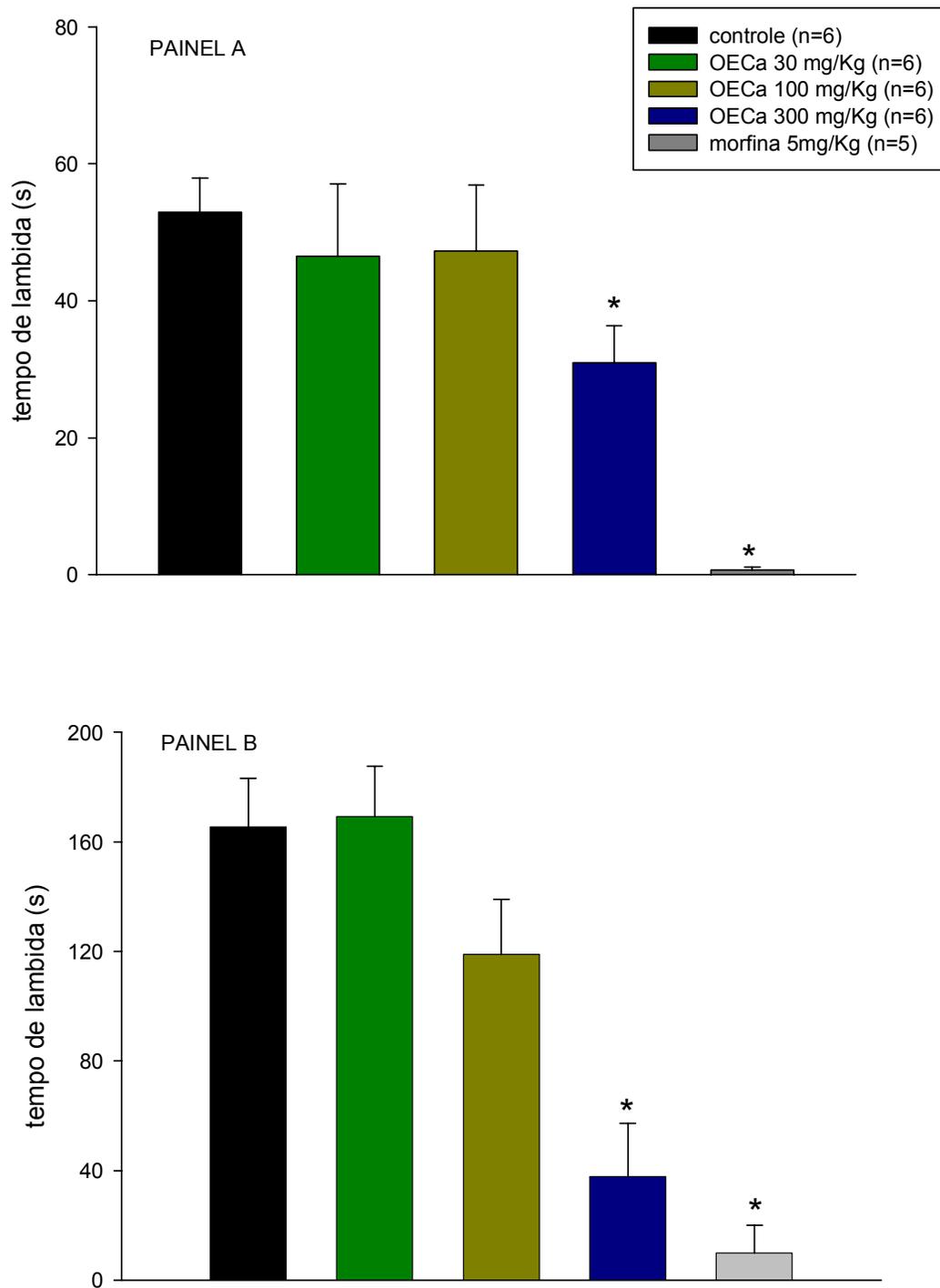


FIGURA 4: Efeito antinociceptivo do OECa, administrado por via oral, no teste formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

Efeito do alfa-pineno no teste da formalina

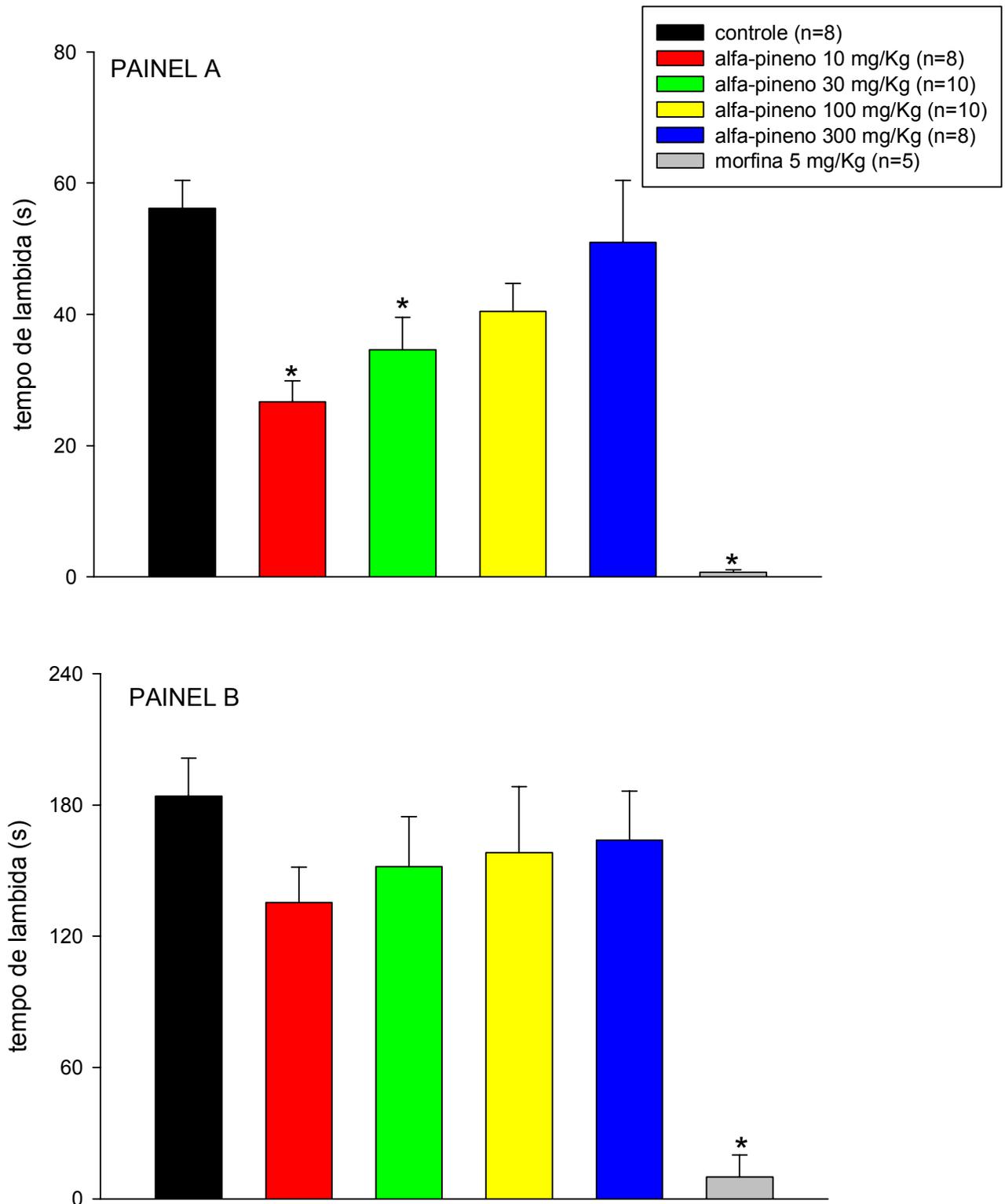


FIGURA 5: Efeito antinociceptivo do alfa-pineno, aplicado por via oral, no teste formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.1.3- Efeito do alfa-pineno e trans-cariofileno no teste da placa quente

Conforme os dados apresentados na **FIGURA 6** podemos observar que a administração oral do α -pineno foi capaz de aumentar significativamente o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico na dose de 300 mg/Kg, nos tempos de 60 e 120 min após sua administração. No tempo de 60 min o aumento foi de $10,7 \pm 0,8$ s, no grupo controle, para $15,1 \pm 0,5$ s (50 %) e no tempo de 120 min foi de $11,5 \pm 0,8$ s, no grupo controle, para $18,6 \pm 1,6$ s (63,6 %) ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak). Para as demais doses testadas, em todos os tempos avaliados, a administração oral do α -pineno não apresentou nenhuma ação antinociceptiva.

A administração subcutânea de 5 mg/Kg de morfina, aqui utilizada como controle positivo, apresentou significativa ação antinociceptiva nos tempos de 60 e 120 min após sua administração, aumentando o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico respectivamente de $11,6 \pm 1,2$ s, no grupo controle, para $21,2 \pm 1,9$ s e de $11,3 \pm 0,5$ s, no grupo controle, para $15,4 \pm 2,0$ s ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak).

Na **FIGURA 7** temos os dados referentes ao efeito antinociceptivo do trans-cariofileno no teste da placa quente. Podemos observar que somente na dose de 300 mg/Kg, e nos tempos de 60 e 120 min após a administração oral do trans-cariofileno, este foi capaz de aumentar o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico. No tempo de 60 min o aumento foi de $9,6 \pm 0,8$ s, no grupo controle, para $12,5 \pm 1,0$ s (25 %) e no tempo de 120 min foi de $9,9 \pm 0,6$ s, no grupo controle, para $14,4 \pm 1,3$ s (55,5 %) ($p < 0,05$, teste T). Para as demais doses testadas, em todos os tempos avaliados, a administração oral do trans-cariofileno não apresentou nenhuma ação antinociceptiva.

A administração subcutânea de 5 mg/Kg de morfina, aqui utilizada como controle positivo, apresentou significativa ação antinociceptiva nos tempos de 60 e 120 min após sua administração, aumentando o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico respectivamente de $9,6 \pm 0,8$ s, no grupo controle, para $21,2 \pm 1,9$ s e de $9,9 \pm 0,6$ s, no grupo controle, para $15,4 \pm 2,0$ s ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak).

Efeito do alfa-pineno no teste da placa quente

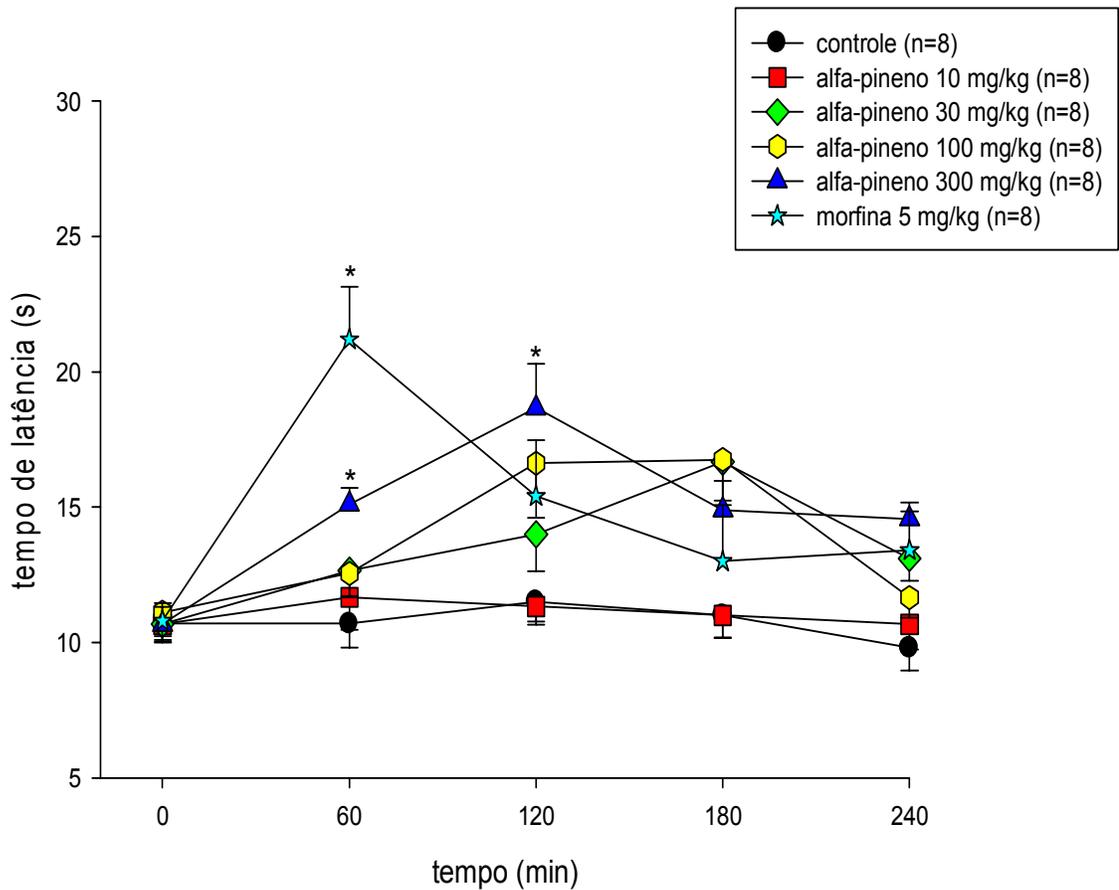


FIGURA 6: Efeito antinociceptivo do alfa-pineno, aplicado por via oral, no teste da placa quente. Abscissa, tempo decorrido, em minutos, após o início do experimento; ordenada, tempo decorrido, em segundos, para que o animal manifeste uma reação dolorosa (latência). Os pontos representam a média do tempo de resposta ao estímulo térmico em tempos pré-determinados e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do trans-cariofileno no teste da placa quente

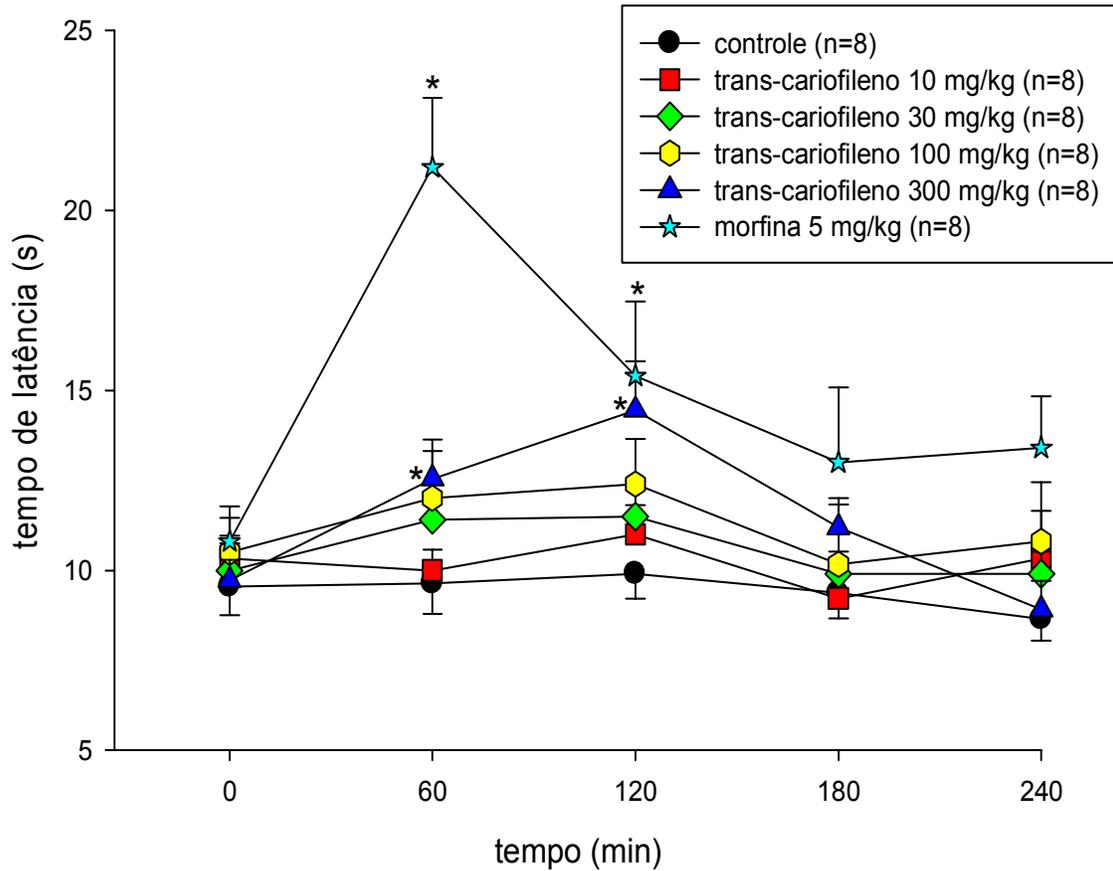


FIGURA 7: Efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no teste da placa quente. Abscissa, tempo decorrido, em minutos, após o início do experimento; ordenada, tempo decorrido, em segundos, para que o animal manifeste uma reação dolorosa (latência). Os pontos representam a média do tempo de resposta ao estímulo térmico em tempos pré-determinados e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.1.4- Efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no teste do glutamato

Como pode ser observado na **FIGURA 8**, a administração oral do OECA apresenta significativo efeito antinociceptivo no teste do glutamato somente na dose de 600 mg/Kg. Nesta dose o OECA diminui o tempo de lambida de $167,3 \pm 19,3$ s, no grupo controle, para $102,4 \pm 9,7$ s, alcançando uma redução de 39 % ($p < 0,05$, teste T). Nas demais doses testadas (30, 100 e 300 mg/Kg) o OECA não apresentou significativo efeito antinociceptivo no teste do glutamato.

Os dados apresentados na **FIGURA 9** mostram que a administração oral do α -pineno apresentou significativa ação antinociceptiva no teste do glutamato na dose de 300 mg/Kg, reduzindo em 38 % o tempo que o camundongo levou lambendo a pata, que foi de $167,3 \pm 19,3$ s no grupo controle ($p < 0,05$, teste T). Nas demais doses testadas (30 e 100 mg/Kg) o α -pineno não apresentou significativa ação antinociceptiva.

Os dados apresentados na **FIGURA 10** mostram que a administração oral do trans-cariofileno apresentou significativa ação antinociceptiva no teste do glutamato nas doses de 100 e 300 mg/Kg, reduzindo, respectivamente, o tempo de lambida de $167,3 \pm 19,3$, no grupo controle para $109,6 \pm 12,0$ e $84,0 \pm 14,9$ s, reduções equivalentes a 34,7 % e 49,7 % ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak).

Efeito do OECa no teste do glutamato

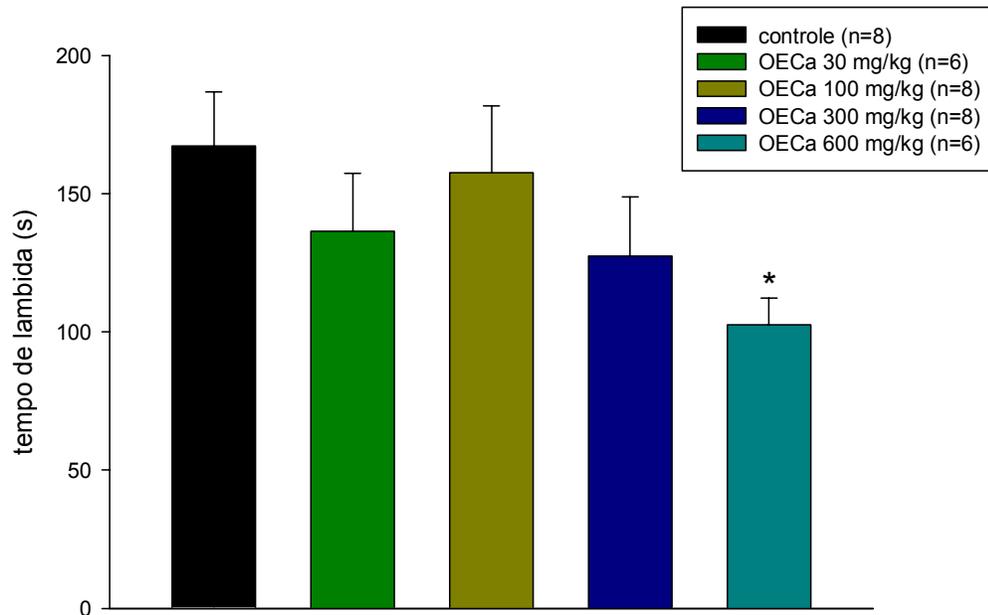


FIGURA 8: Efeito antinociceptivo do OECa, aplicado por via oral, no teste do glutamato. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito antinociceptivo do alfa-pineno no teste do glutamato

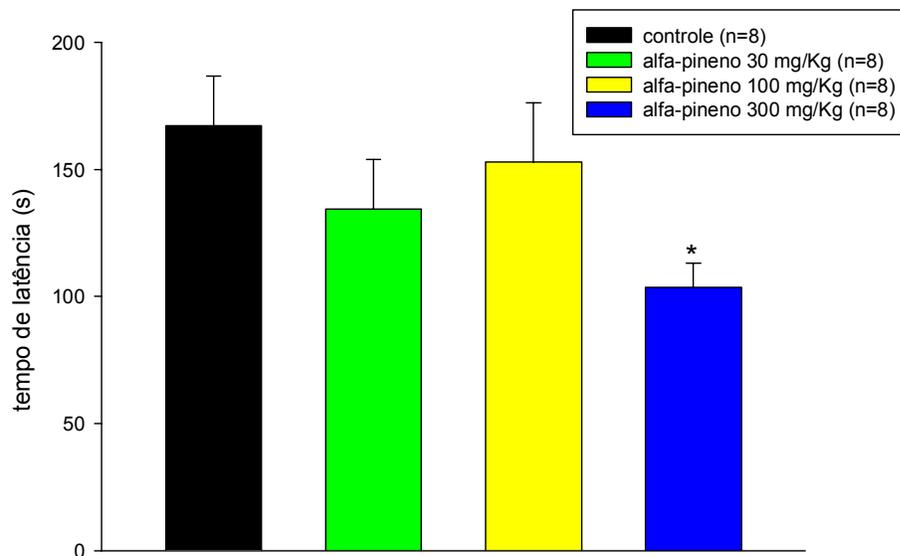


FIGURA 9: Efeito antinociceptivo do alfa-pineno, aplicado por via oral, no teste do glutamato. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do trans-cariofileno no teste do glutamato

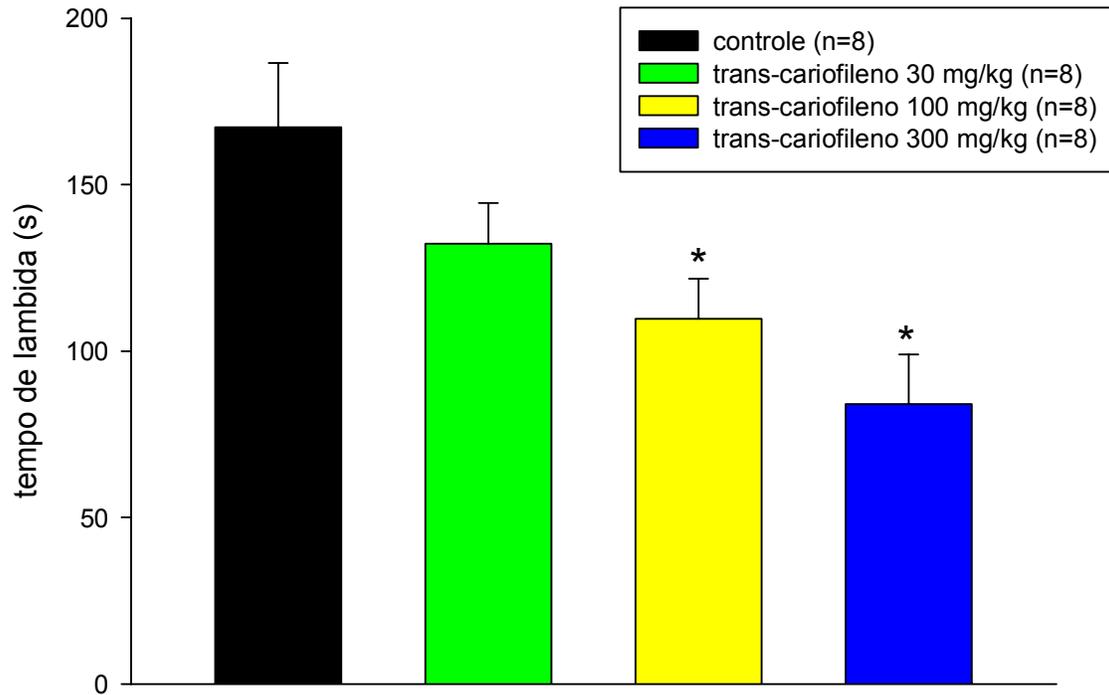


FIGURA 10: Efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no teste do glutamato. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.2- Estudo dos possíveis mecanismos de ação antinociceptivo do OECa e do trans-cariofileno

4.2.1- Participação do sistema opióide

4.2.1.1- Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do OECa

Podemos observar na **FIGURA 11A** que o pré-tratamento com naloxona foi capaz de reverter a ação antinociceptiva da morfina, mas não a do OECa, na primeira fase do teste da formalina. No grupo tratado com morfina o tempo médio de lambida foi de $0,6 + 0,4$ s, no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de morfina o tempo médio de lambida foi de $45,1 \pm 6,7$ s, o que representa uma reversão de efeito de 98,6 % ($p < 0,05$, teste T).

Na segunda fase do teste da formalina, como pode ser observado na **FIGURA 11B**, o pré-tratamento com naloxona foi capaz de reverter significativamente o efeito antinociceptivo tanto da morfina quanto do OECa. No grupo tratado com morfina o tempo médio de lambida foi de $10,0 + 10,0$ s, no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de morfina o tempo médio de lambida foi de $104,4 \pm 34,9$ s, alcançando uma reversão de efeito de 90 % ($p < 0,05$, teste T). Para o grupo tratado com OECa o tempo médio de lambida foi de $50,3 \pm 21,1$ s, e no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de OECa o tempo médio de lambida foi de $247,5 \pm 56,4$ s, alcançando uma reversão de efeito de 80 % ($p < 0,05$, teste T).

Participação do sistema opióide
no efeito antinociceptivo do OECa

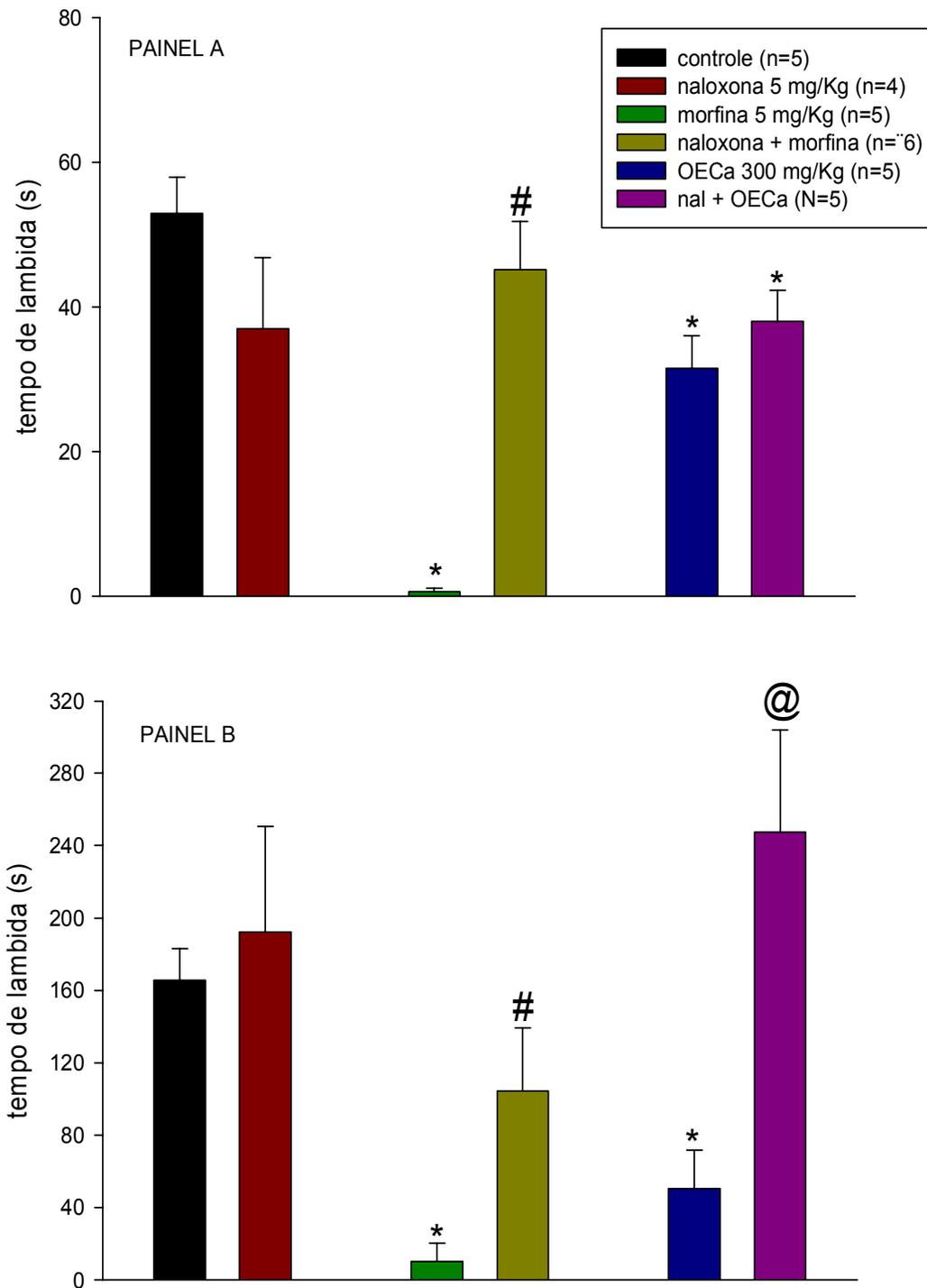


FIGURA 11: Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do OECa, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com morfina; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com OECa. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.1.2- Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno

Podemos observar na **FIGURA 12A** que o pré-tratamento com naloxona foi capaz de reverter a ação antinociceptiva da morfina, bem como do trans-cariofileno, na primeira fase do teste da formalina. No grupo tratado com morfina o tempo médio de lambida foi de $0,6 \pm 0,4$ s, no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de morfina o tempo médio de lambida foi de $45,1 \pm 6,7$ s, o que significa uma reversão de efeito de 98,6 % ($p < 0,05$, teste T). Para o grupo tratado com trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $25,1 \pm 3,4$ s, e no grupo pré-tratado com prazosin antes da administração de trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $60,5 \pm 9,2$ s, o que significa uma reversão de efeito de 58,6 % ($p < 0,05$, teste T).

Na segunda fase do teste da formalina, como pode ser observado na **FIGURA 12B**, o pré-tratamento com naloxona também foi capaz de reverter significativamente o efeito antinociceptivo tanto da morfina quanto do trans-cariofileno. No grupo tratado com morfina o tempo médio de lambida foi de $10,0 \pm 1,7$ s, no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de morfina o tempo médio de lambida foi de $104,4 \pm 34,9$ s, alcançando uma reversão de efeito de 90 % ($p < 0,05$, teste T). Para o grupo tratado com trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $89,4 \pm 13,7$ s, e no grupo pré-tratado com naloxona antes da administração de trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $191,4 \pm 33,6$ s, alcançando uma reversão de efeito de 53 % ($p < 0,05$, teste T).

Participação do sistema opióide
no efeito antinociceptiva do trans-cariofileno

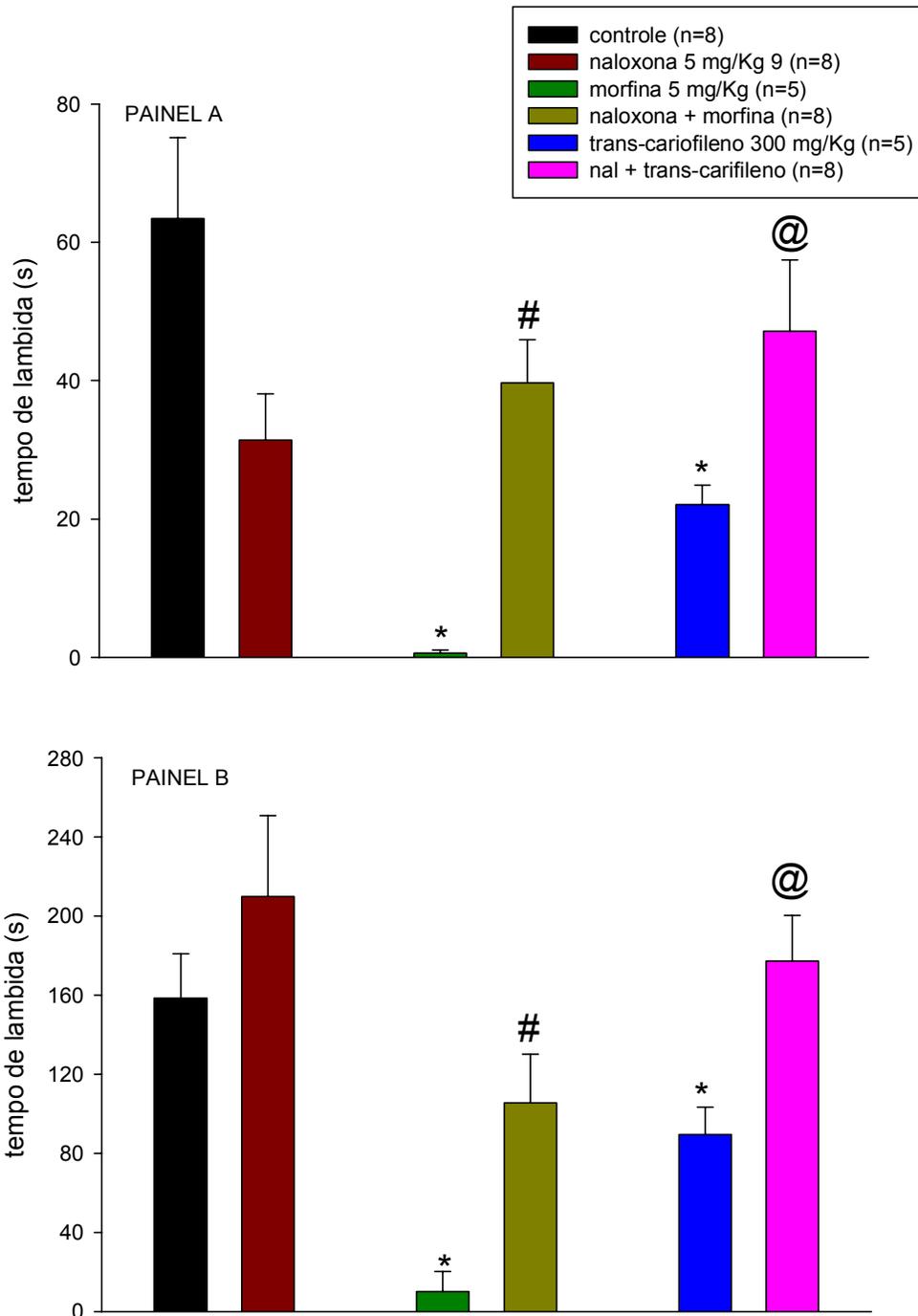


FIGURA 12: Participação do sistema opióide no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com morfina; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com trans-cariofileno. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.2- Participação da via L-arginina-óxido nítrico

4.2.2.1- Participação da via L-arginina/Óxido nítrico no efeito antinociceptivo do OECa

Os dados apresentados na **FIGURA 13**, mostram que a via L-arginina/óxido nítrico participa da ação antinociceptiva do OECa somente na segunda fase do teste da formalina. Na **FIGURA 13B**, pode-se notar que o pré-tratamento com L-arginina foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do L-NOARG e do OECa na segunda fase do teste da formalina. No grupo tratado com L-NOARG o tempo de lambida foi de $30,7 \pm 12,3$ s, e no grupo de L-NOARG pré-tratado com L-arginina o tempo de lambida foi de $235,4 \pm 32,9$ s, o que representa uma significativa reversão de 87 % do efeito antinociceptivo do L-NOARG ($p < 0,05$, teste T). Já no grupo tratado com OECa o tempo de lambida foi de $37,8 \pm 19,3$ s, e no grupo de trans-cariofileno pré-tratado com L-arginina o tempo de lambida foi de $133,5 \pm 32,2$ s, o que representa uma significativa reversão de 72 % do efeito antinociceptivo do trans-cariofileno ($p < 0,05$, teste T).

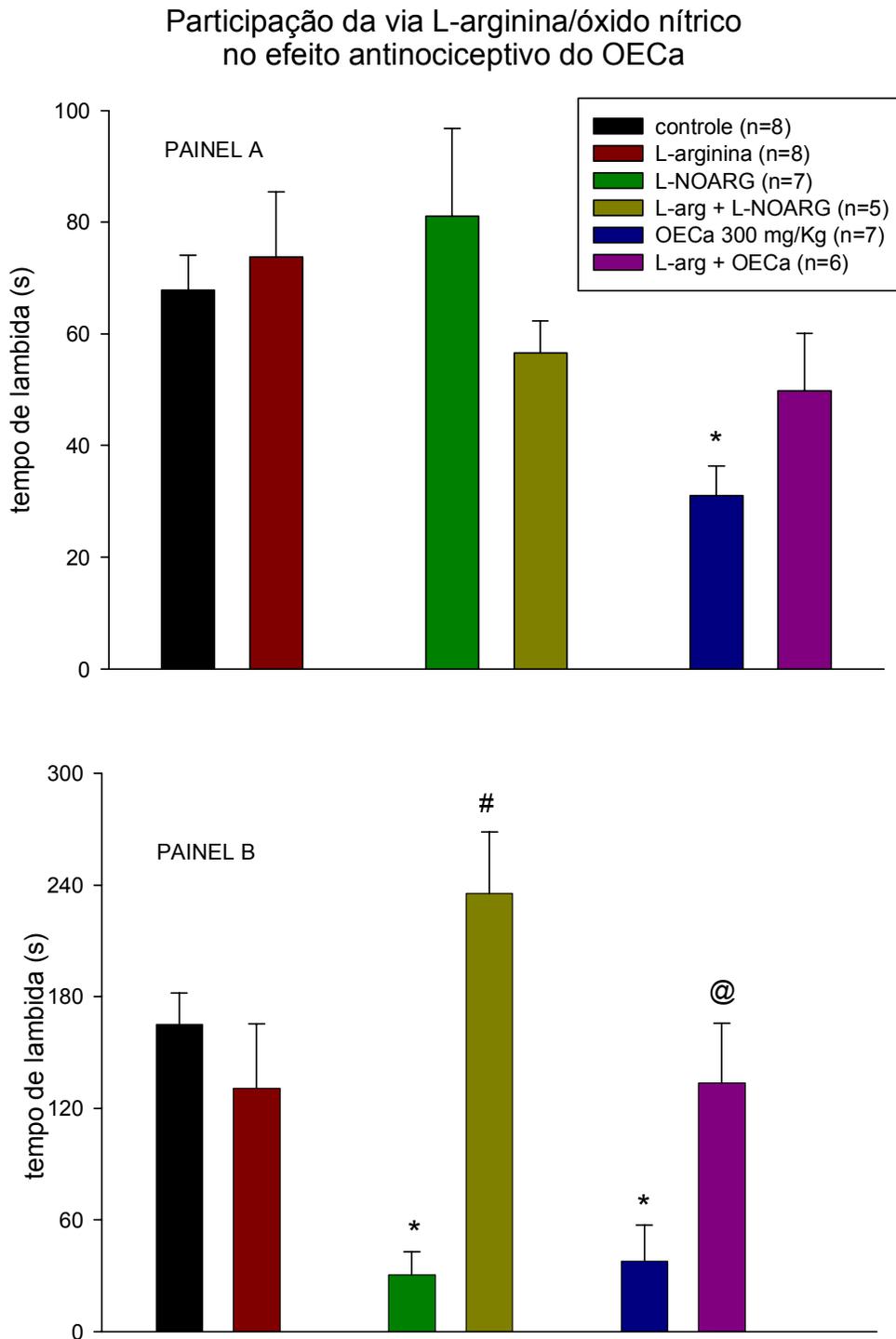


FIGURA 13: Participação da via L-arginina/Óxido nítrico no efeito antinociceptivo do OECa, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com L-NOARG; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com OECa. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.2.2- Participação da via L-arginina/Óxido nítrico no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno

Os dados apresentados na **FIGURA 14** mostram que a via L-arginina/óxido nítrico participa da ação antinociceptiva do trans-cariofileno tanto na primeira quanto na segunda fase do teste da formalina. Na **FIGURA 14A**, pode-se notar que o pré-tratamento com L-arginina foi capaz de reverter parcialmente a ação antinociceptiva do trans-cariofileno na primeira fase do teste da formalina, aumentando o tempo de lambida de $21,5 \pm 2,8$ s, no grupo tratado somente com trans-cariofileno, para $49,5 \pm 10,8$ s, no grupo pré-tratado com L-arginina, alcançando uma reversão de 57 % do efeito antinociceptivo do trans-cariofileno ($p < 0,05$, teste T).

Na **FIGURA 14B**, pode-se notar que o pré-tratamento com L-arginina foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do L-NOARG e do trans-cariofileno na segunda fase do teste da formalina. No grupo tratado com L-NOARG o tempo de lambida foi de $30,7 \pm 12,3$ s, e no grupo de L-NOARG pré-tratado com L-arginina o tempo de lambida foi de $235,4 \pm 32,9$ s, o que representa uma significativa reversão de 87 % do efeito antinociceptivo do L-NOARG ($p < 0,05$, teste T). Já no grupo tratado com trans-cariofileno o tempo de lambida foi de $69,7 \pm 10,2$ s, e no grupo de trans-cariofileno pré-tratado com L-arginina o tempo de lambida foi de $242,5 \pm 40,6$ s, o que representa uma significativa reversão de 71 % do efeito antinociceptivo do trans-cariofileno ($p < 0,05$, teste T).

Participação da via L-arginina / Óxido nítrico
no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno

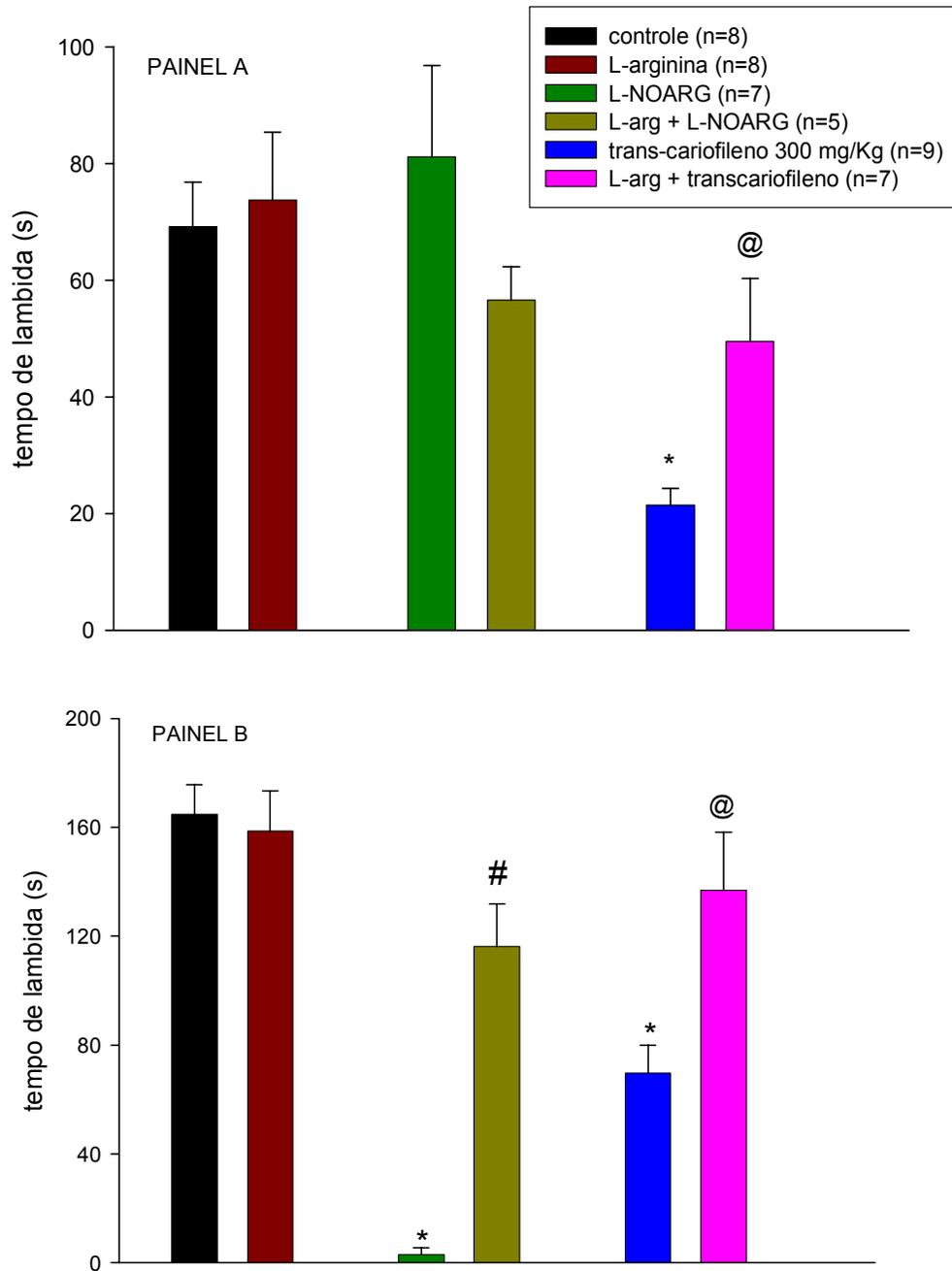


FIGURA 14: Participação da via L-arginina/Oxido nítrico no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com L-NOARG; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com trans-cariofileno. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.3- Participação dos alfa-adrenoreceptores

4.2.3.1- Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo do OECa

Como pode ser observado na **FIGURA 15A**, o pré-tratamento com prazosin não foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do OECa na primeira fase do teste da formalina, mas foi capaz de reverter significativamente o efeito antinociceptivo da fenilefrina, aumentando o tempo de lambida de $21,0 \pm 3,7$ s, no grupo tratado somente com fenilefrina, para $36,5 \pm 5,7$ s, no grupo pré-tratado com prazosin, alcançando uma reversão de 42 % ($p < 0,05$, teste T).

Já na segunda fase do teste da formalina, como pode ser observado na **FIGURA 15B**, o pré-tratamento com prazosin reverteu significativamente o efeito antinociceptivo tanto da fenilefrina, quanto do OECa. No grupo tratado com fenilefrina o tempo médio de lambida foi de $2,9 \pm 2,6$ s, no grupo pré-tratado com prazosin antes da administração de fenilefrina o tempo médio de lambida foi de $116,1 \pm 15,5$ s, o que significa uma reversão de efeito de 97 % ($p < 0,05$, teste T). Para o grupo tratado com OECa o tempo médio de lambida foi de $37,8 \pm 19,3$ s, e no grupo pré-tratado com prazosin antes da administração de trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $105,3 \pm 20,9$ s, o que significa uma reversão de efeito de 64 % ($p < 0,05$, teste T).

Participação dos receptores adrenérgicos α_1
no efeito antinociceptivo do OECa

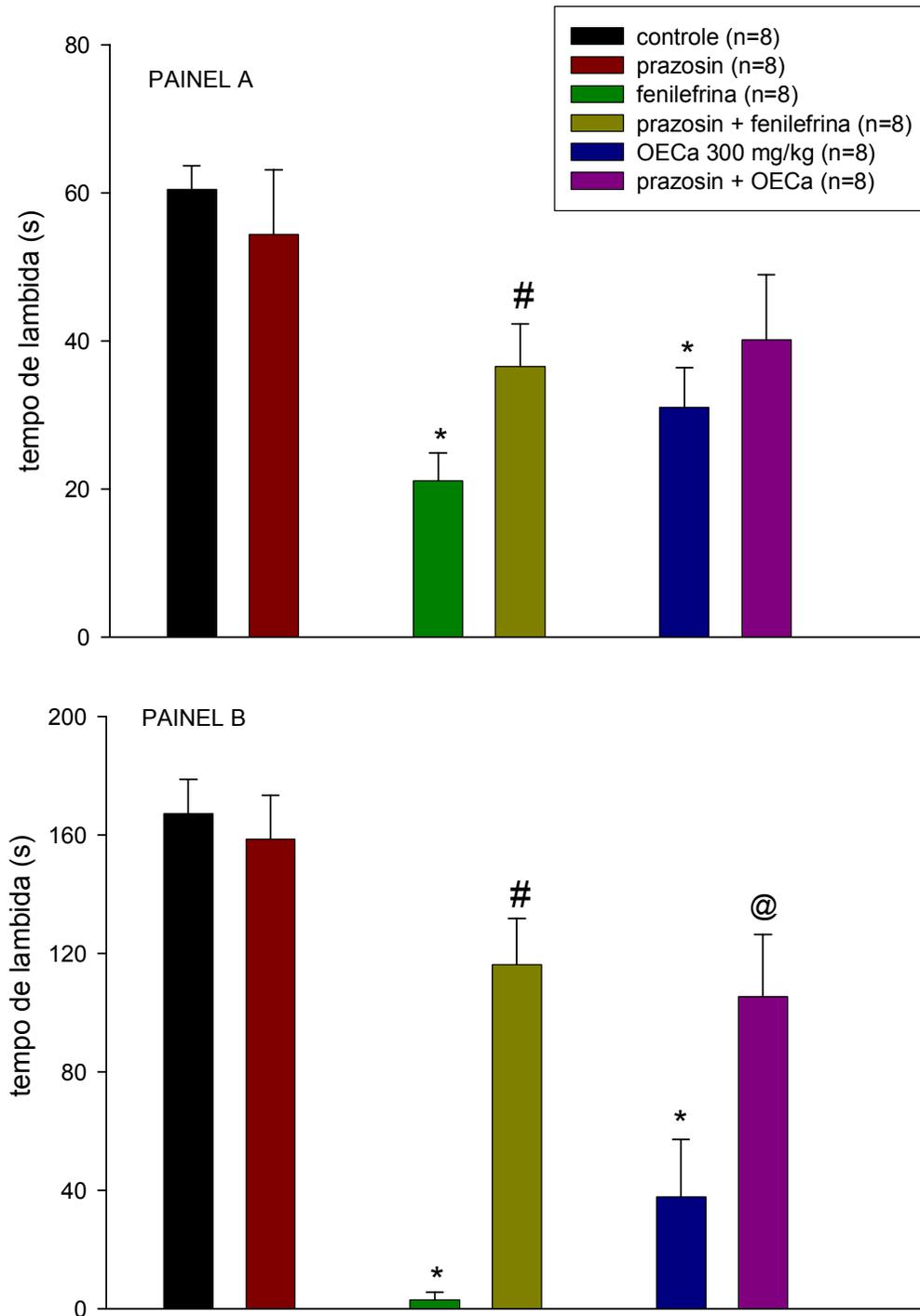


FIGURA 15: Participação dos receptores α_1 no efeito antinociceptivo do OECa, aplicado via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com prazosin; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com OECa. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.3.2- Participação dos receptores adrenérgicos $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno

Na **FIGURA 16A**, podemos observar que o pré-tratamento com prazosin não foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do trans-cariofileno na primeira fase do teste da formalina, mas foi capaz de reverter significativamente o efeito antinociceptivo da fenilefrina, aumentando o tempo de lambida de $21,0 \pm 3,7$ s, no grupo tratado somente com fenilefrina, para $36,5 \pm 5,7$ s, no grupo pré-tratado com prazosin, alcançando uma reversão de 42 % ($p < 0,05$, teste T).

Já na segunda fase do teste da formalina, como pode ser observado na **FIGURA 16B**, o pré-tratamento com prazosin reverteu significativamente o efeito antinociceptivo tanto da fenilefrina, quanto do trans-cariofileno. No grupo tratado com fenilefrina o tempo médio de lambida foi de $2,9 \pm 2,6$ s, no grupo pré-tratado com prazosin antes da administração de fenilefrina o tempo médio de lambida foi de $116,1 \pm 15,5$ s, o que significa uma reversão de efeito de 97 % ($p < 0,05$, teste T). Para o grupo tratado com trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $69,7 \pm 10,2$ s, e no grupo pré-tratado com prazosin antes da administração de trans-cariofileno o tempo médio de lambida foi de $136,8 \pm 21,4$ s, o que significa uma reversão de efeito de 49 % ($p < 0,05$, teste T).

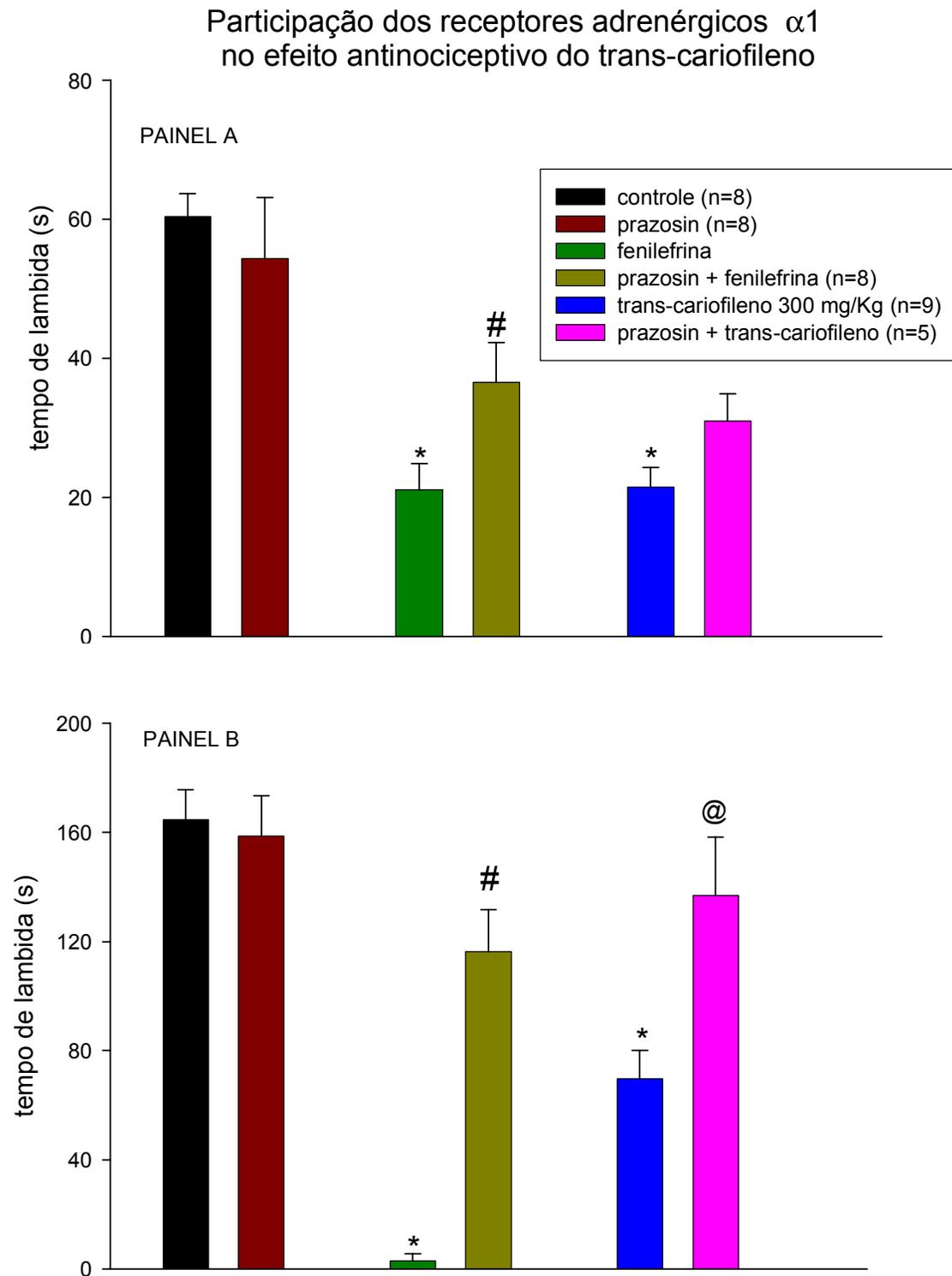


FIGURA 16: Participação dos receptores α_1 no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; # $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com prazosin; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com OECA. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.2.3.3- Participação dos receptores adrenérgicos α_2 no efeito antinociceptivo do OECa

Observamos na **FIGURA 17** que o pré-tratamento com ioimbina foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do OECa na primeira e segunda fase do teste da formalina. Na primeira fase do teste, **FIGURA 17A**, o grupo tratado com OECa apresentou um tempo médio de lambida de $12,7 \pm 2,1$ s, o pré-tratamento com ioimbina aumentou significativamente o tempo médio de lambida para $32,5 \pm 7,1$ s, com uma reversão de efeito de 62 % ($p < 0,05$, teste T).

Já na segunda fase do teste da formalina, como pode ser observado na **FIGURA 17B**, o grupo tratado com OECa apresentou um tempo médio de lambida de $77,6 \pm 22,3$ s, o pré-tratamento com ioimbina aumentou significativamente o tempo médio de lambida para $206,0 \pm 28,7$ o que representa uma reversão de efeito de 62 % ($p < 0,05$, teste T).

4.2.3.4- Participação dos receptores adrenérgicos α_2 no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno

Os dados mostrados na **FIGURA 18** mostram que o pré-tratamento com ioimbina não foi capaz de reverter a ação antinociceptiva do trans-cariofileno tanto na primeira quanto na segunda fase do teste da formalina.

Participação dos receptores adrenérgicos α_2
no efeito antinociceptivo do OECa

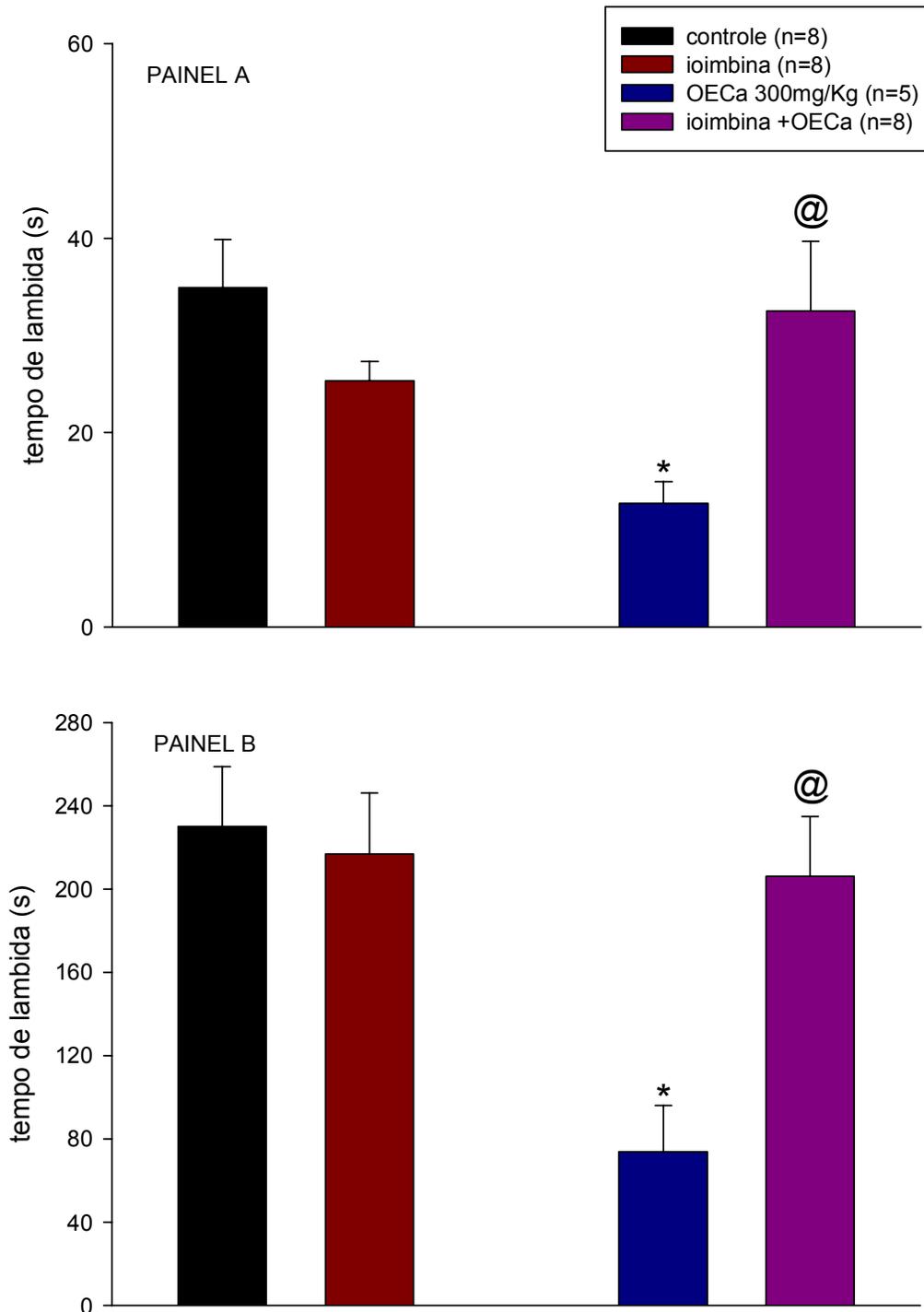


FIGURA 17: Participação dos receptores α_2 no efeito antinociceptivo do OECa, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle; @ $p < 0,05$, em relação ao grupo tratado com OECa. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

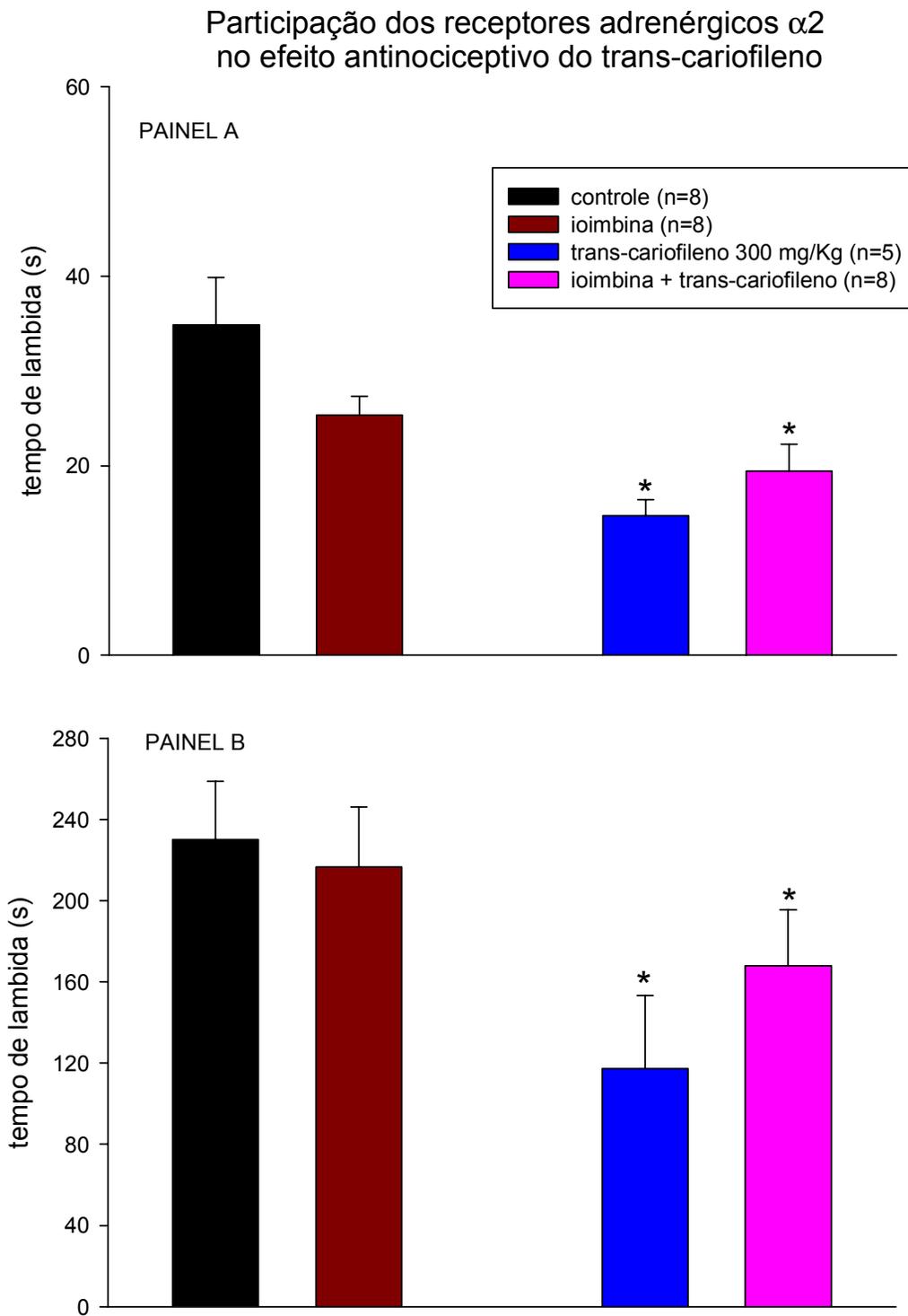


FIGURA 18: Participação dos receptores α_2 no efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no teste da formalina. Ordenada, tempo gasto (em segundos) pelos animais lambendo a pata. As colunas representam a média do tempo de lambida da pata e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle. PAINEL A: 1ª fase do teste da formalina. PAINEL B: 2ª fase do teste da formalina.

4.3- Avaliação do efeito antiedematogênico do OECA, trans-cariofileno e alfa-pineno

4.3.1- Efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato

4.3.1.1- Efeito do OECA no edema de pata induzido por glutamato

Os dados apresentados na **FIGURA 19** mostram que a administração oral do OECA não apresentou ação antiedematogênica em nenhuma das doses testadas, não sendo capaz de reduzir de forma significativa o edema de pata induzido pela administração intraplantar do glutamato.

4.3.1.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por glutamato

Os dados apresentados na **FIGURA 20** mostram que a administração oral do α -pineno só apresentou significativa ação antiedematogênica com relação ao edema induzido por glutamato na dose de 300 mg/Kg, reduzindo em 26 % o edema induzido pela administração intraplantar de glutamato, que foi de $88,0 \pm 4,1$ mg no grupo controle ($p < 0,05$, teste T). Nas demais doses testadas (30 e 100 mg/Kg) o α -pineno não apresentou significativa ação antiedematogênica.

Ausência de efeito do OEca no edema de pata induzido por glutamato

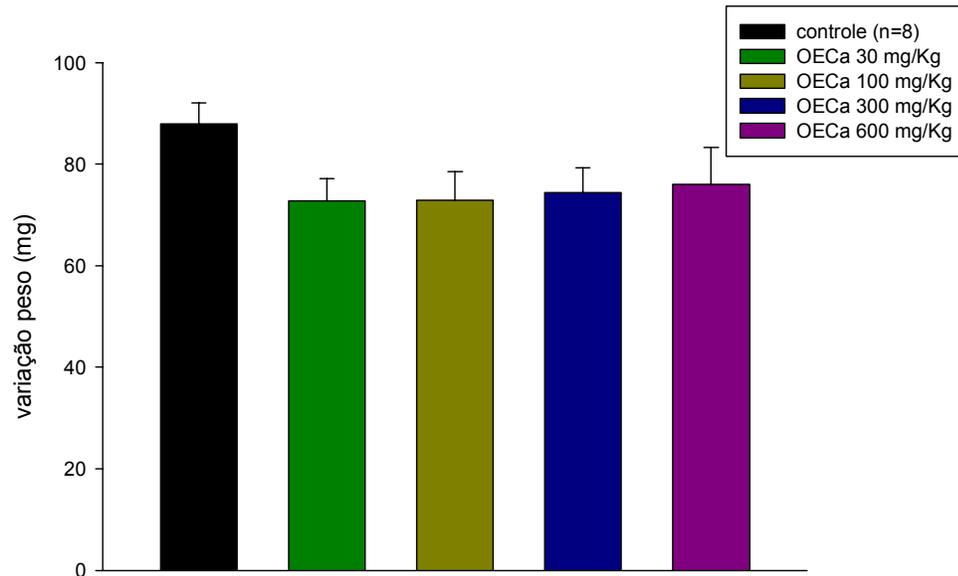


FIGURA 19: Ausência de efeito antiedematogênico do OEca, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de glutamato. As colunas representam a média da diferença de peso entre a pata direita (glutamato) e a esquerda (salina) e as barras verticais o erro padrão média.

Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por glutamato

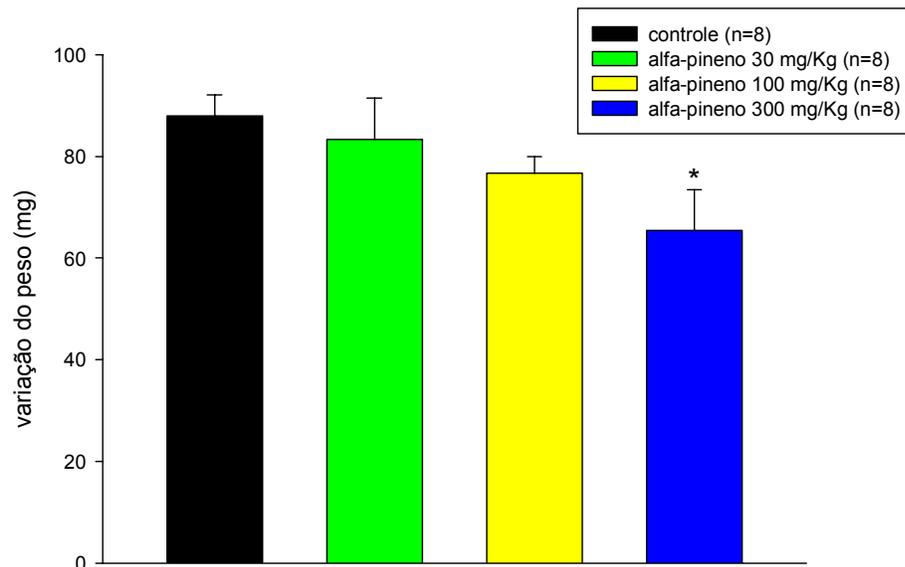


FIGURA 20: Efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de glutamato. As barras representam a média da diferença de peso entre as pata direita (glutamato) e a esquerda (salina) e as barras verticais o erro padrão média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.1.3- Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato

Os dados apresentados na **FIGURA 21** mostram que a administração oral do transcariofileno apresentou significativa ação antiedematogênica no edema induzido por glutamato em todas as doses testadas, não sendo caracterizado um efeito dose-dependente. No grupo controle a média de edema induzido pela administração intraplantar de glutamato foi de $88,0 \pm 4,1$ mg. Para as doses de 30, 100 e 300 mg/Kg as médias foram, respectivamente, de $70,4 \pm 4,8$ mg, $66,0 \pm 3,9$ mg e $66,3 \pm 2,7$ mg, o que representa uma significativa redução de 20 , 25 e 25 % , respectivamente ($p < 0,05$, teste T).

Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por glutamato

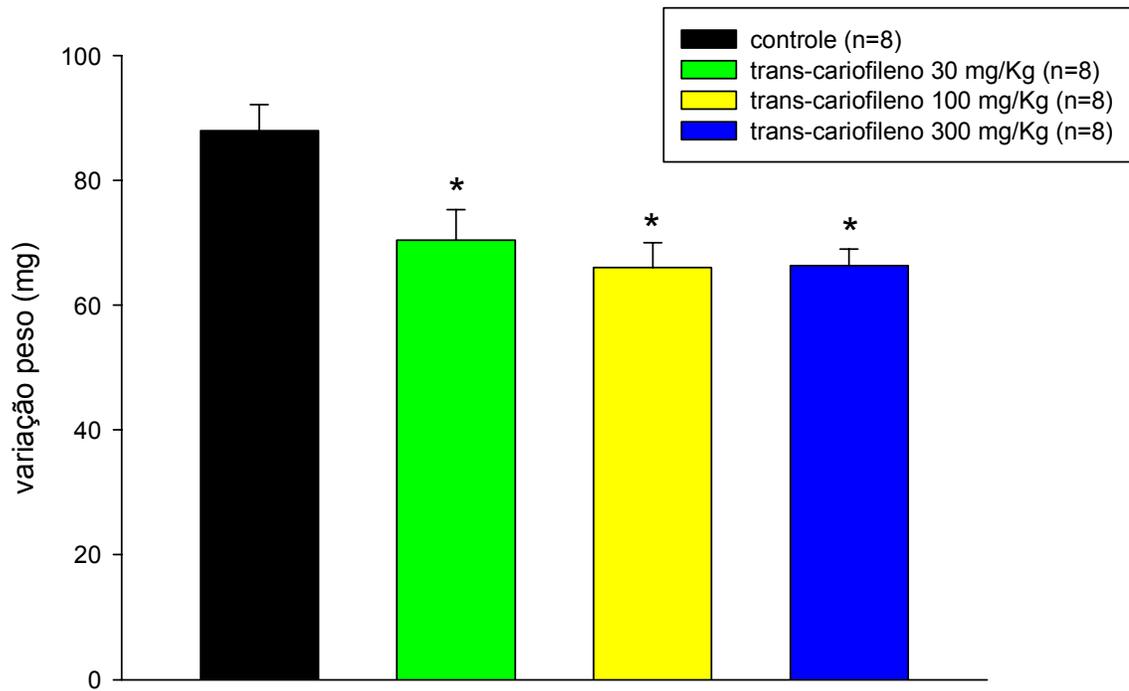


FIGURA 21: Efeito antiedematogênico do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de glutamato. As barras representam a média da diferença de peso entre as patas direita (glutamato) e a esquerda (salina) e as barras verticais o erro padrão média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.2- Efeito do OECa, alfa-pineno e trans-cariofileno no edema de pata induzido por dextrana

4.3.2.1- Efeito do OECa no edema de pata induzido por dextrana

De acordo com os dados mostrados na **FIGURA 22** a administração oral do OECa na dose de 100 mg/Kg apresentou um significativo efeito antiedematogênico no edema de pata induzido por dextrana nos tempos de 30 e 60 min, diminuindo o edema de $466,6 \pm 71,9 \mu\text{L}$ e $600,0 \pm 77,7 \mu\text{L}$ no grupo controle para $242,0 \pm 49,7 \mu\text{L}$ e $336,0 \pm 73,8 \mu\text{L}$ no grupo tratado com OECa, uma redução média de 48,5 % ($p < 0,05$, teste T).

4.3.2.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por dextrana

De acordo com os dados mostrados na **FIGURA 23** a administração oral do alfa-pineno, na dose de 100 mg/Kg, não apresentou efeito antiedematogênico no edema de pata induzido por dextrana.

4.3.2.3- Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por dextrana

De acordo com os dados mostrados na **FIGURA 24** a administração oral do trans-cariofileno na dose de 100 mg/Kg apresentou um significativo efeito antiedematogênico no edema de pata induzido por dextrana somente no tempo 60 min, diminuindo o edema de $600,0 \pm 77,7 \mu\text{L}$ no grupo controle para $342,0 \pm 83,2 \mu\text{L}$ no grupo tratado com trans-cariofileno, uma redução média de 43 % ($p < 0,05$, teste T).

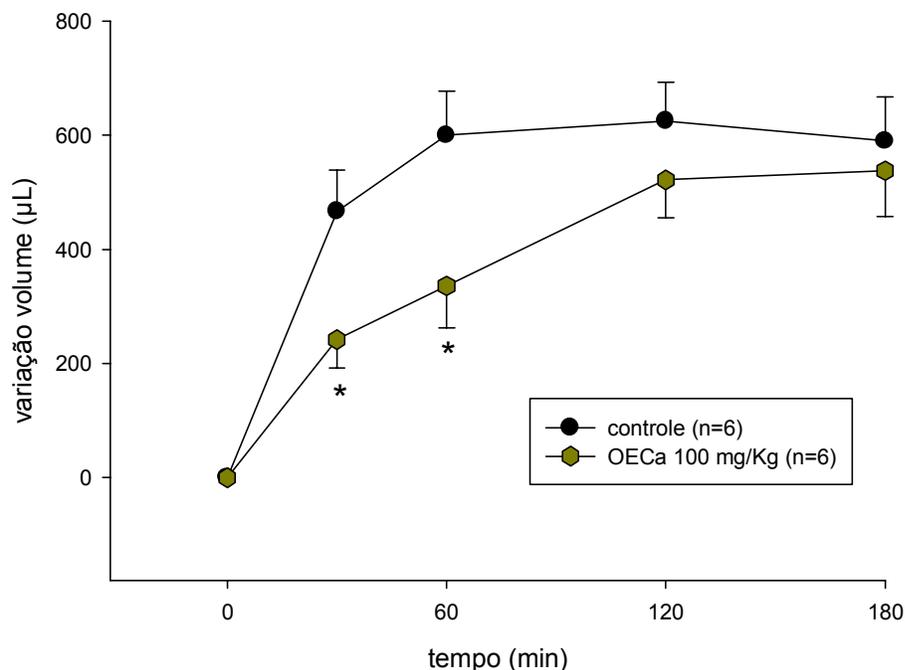


FIGURA 22: Efeito antiedematogênico do OECa, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de dextrana. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de dextrana; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de dextrana e as barras verticais o erro padrão da média * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Ausência de efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por dextrana

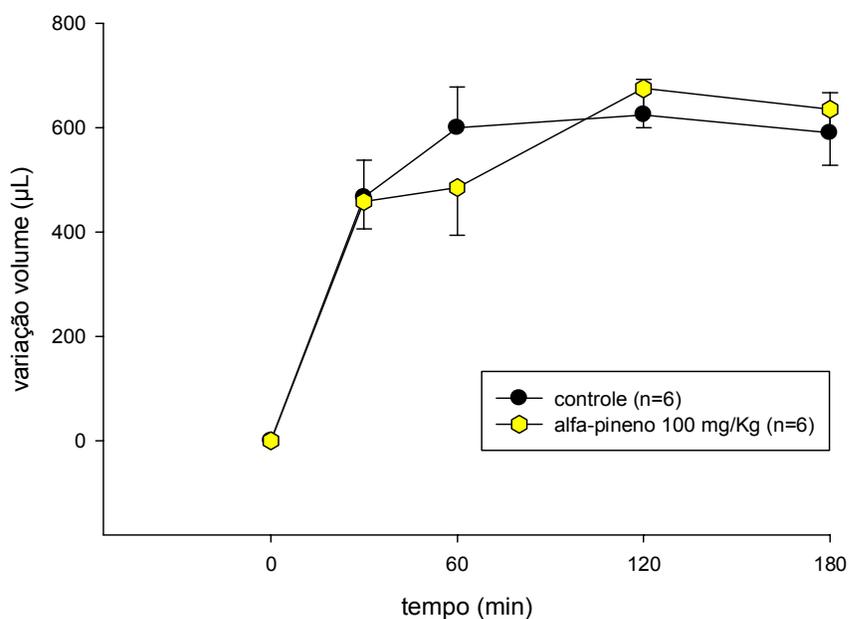


FIGURA 23: Ausência de efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de dextrana. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de dextrana; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de dextrana e as barras verticais o erro padrão da média.

Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por dextrana

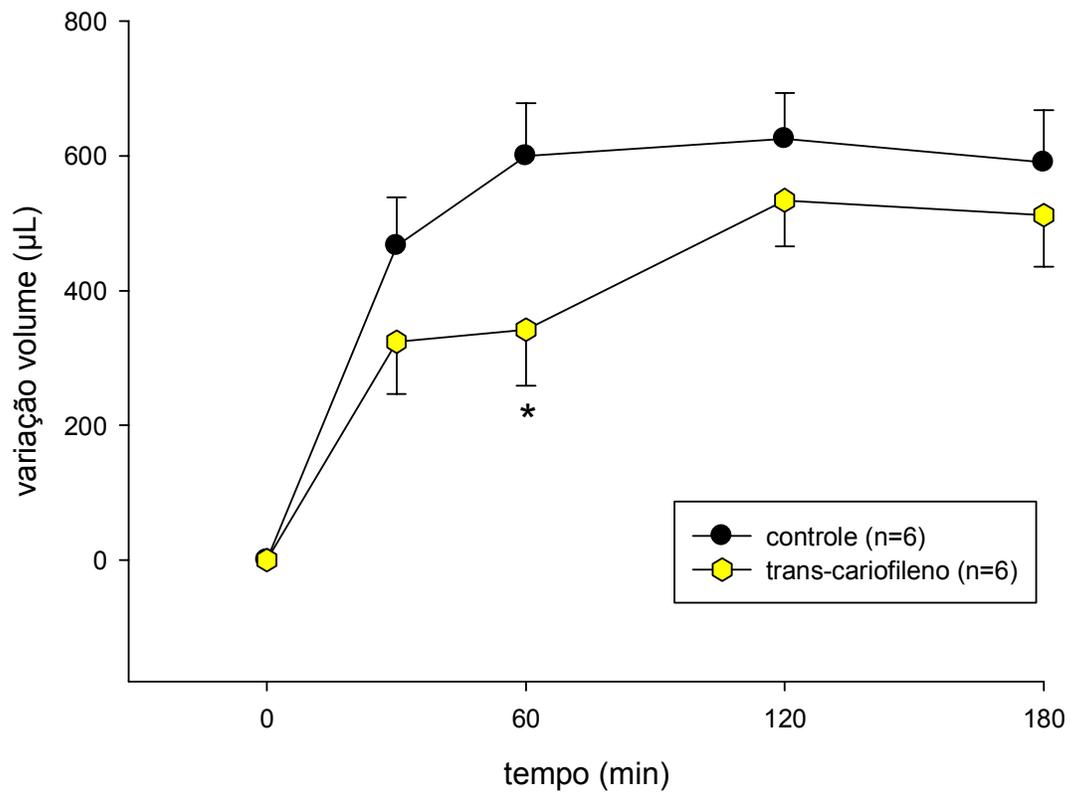


FIGURA 24: Efeito antiedematogênico do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de dextrana. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de dextrana; ordenada, variação do volume da pata em µL. Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de dextrana e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.3- Efeito do OECa e alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina

4.3.3.1- Efeito do OECa no edema de pata induzido por carragenina

Na **FIGURA 25** podemos observar que a administração oral do OECa apresentou um significativo efeito antiedematogênico, com relação ao edema de pata induzido por carragenina. Tanto na dose de 30 mg/kg quanto na dose de 100 mg/Kg o efeito antiedematogênico do OECa só foi observado no tempo de 60 min. No tempo de 60 min, o grupo controle apresentou um volume de edema de $90,0 \pm 7,8 \mu\text{L}$, no grupo tratado com OECa na dose de 30 mg/kg o volume de edema foi reduzido significativamente para $66,9 \pm 7,1 \mu\text{L}$, e no grupo tratado com OECa 100 mg/kg o volume de edema foi reduzido significativamente para $61,6 \pm 6,6 \mu\text{L}$. Para as duas doses a redução média no volume de edema foi de 28,6% ($p < 0,05$, teste T).

4.3.3.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina

Na **FIGURA 26** podemos observar que a administração oral do α -pineno apresentou um significativo efeito antiedematogênico, com relação ao edema de pata induzido por carragenina. Tanto na dose de 100 mg/kg quanto na dose de 300 mg/Kg o efeito antiedematogênico do α -pineno teve início no tempo de 60 min e se manteve até o tempo de 180 min. Para o grupo controle os volumes de edema, respectivamente nos tempos de 60, 120 e 180 min, foram de $88,9 \pm 7,6 \mu\text{L}$; $99,0 \pm 7,5 \mu\text{L}$; $112,2 \pm 6,6 \mu\text{L}$. No grupo tratado com α -pineno na dose de 100 mg/kg os volumes de edema foram reduzidos significativamente, respectivamente nos tempos de 60, 120 e 180 min, para $63,3 \pm 4,4 \mu\text{L}$; $81,4 \pm 7,0 \mu\text{L}$; $74,2 \pm 6,4 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). E no grupo tratado com α -pineno na dose de 300 mg/kg os volumes de edema foram reduzidos significativamente, respectivamente nos tempos de 60, 120 e 180 min, para $51,1 \pm 7,3 \mu\text{L}$; $63,3 \pm 12,1 \mu\text{L}$; $67,7 \pm 9,8 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak). Em ambas as doses efetivas a melhor ação antiedematogênica foi observada no tempo de 180 min e a redução no

volume do edema foi de 33,9 %, para a dose de 100mg/Kg e de 40,1 % para a dose de 300mg/Kg. As demais doses testadas (10 e 30 mg/Kg) não apresentaram ação antiedematogênica em nenhum dos tempos avaliados.

4.3.4- Efeito do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no edema de pata induzido por serotonina

4.3.4.1- Efeito do OECA no edema de pata induzido por serotonina

Pode-se observar, na **FIGURA 27**, que a administração oral do OECA apresentou um significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por serotonina. Nas doses de 30, 100 e 300 mg/kg este efeito foi encontrado a partir do tempo de 30 min e se manteve até o tempo de 90 min. Para as três doses citadas o melhor efeito foi encontrado no tempo de 60 min e a redução foi respectivamente de 67,7; 48,3 e 77,4 %. No grupo controle os volumes de edema, respectivamente nos tempos de 30, 60 e 90 min, foram de $108,4 \pm 6,7 \mu\text{L}$; $93,8 \pm 8,2 \mu\text{L}$ e $66,6 \pm 6,4 \mu\text{L}$. No grupo tratado com OECA na dose de 30 mg/kg o volume de edema foi reduzido significativamente, respectivamente nos tempos de 30, 60 e 90 min, para $67,5 \pm 3,6 \mu\text{L}$; $31,6 \pm 6,5 \mu\text{L}$ e $30,0 \pm 8,4 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). No grupo tratado com OECA na dose de 100 mg/Kg o volume de edema foi reduzido significativamente, respectivamente nos tempos de 30, 60 e 90 min, para $70,0 \pm 7,0 \mu\text{L}$; $48,7 \pm 4,7 \mu\text{L}$ e $30,0 \pm 5,0 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). No grupo tratado com OECA na dose de 300 mg/Kg o volume de edema foi reduzido significativamente, respectivamente nos tempos de 30, 60 e 90 min, para $48,7 \pm 4,4 \mu\text{L}$; $21,6 \pm 4,7 \mu\text{L}$ e $30,0 \pm 6,5 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). O OECA na dose de 10 mg/Kg não apresentou ação antiedematogênica em nenhum dos tempos avaliados.

Efeito do OECa no edema de pata induzido por carragenina

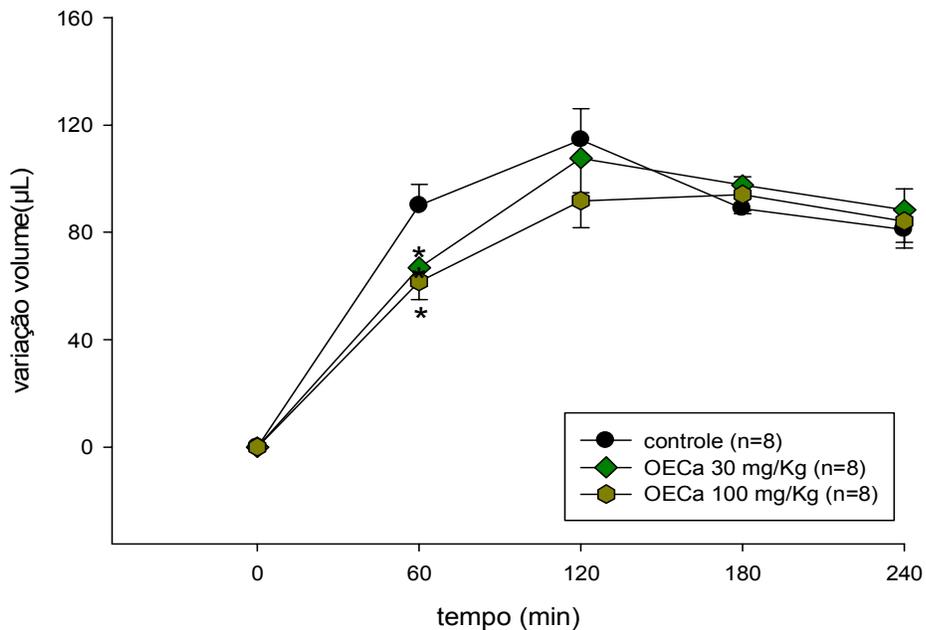


FIGURA 25: Efeito antiedematogênico do OECa, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de carragenina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de carragenina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por carragenina

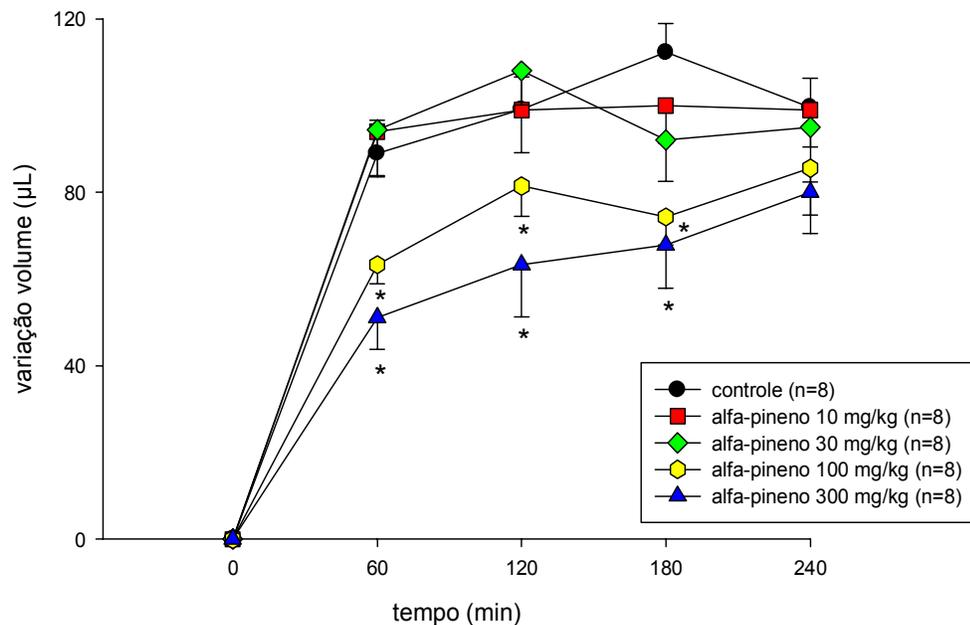


FIGURA 26: Efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de carragenina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de carragenina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do OECa no edema de pata induzido por serotonina

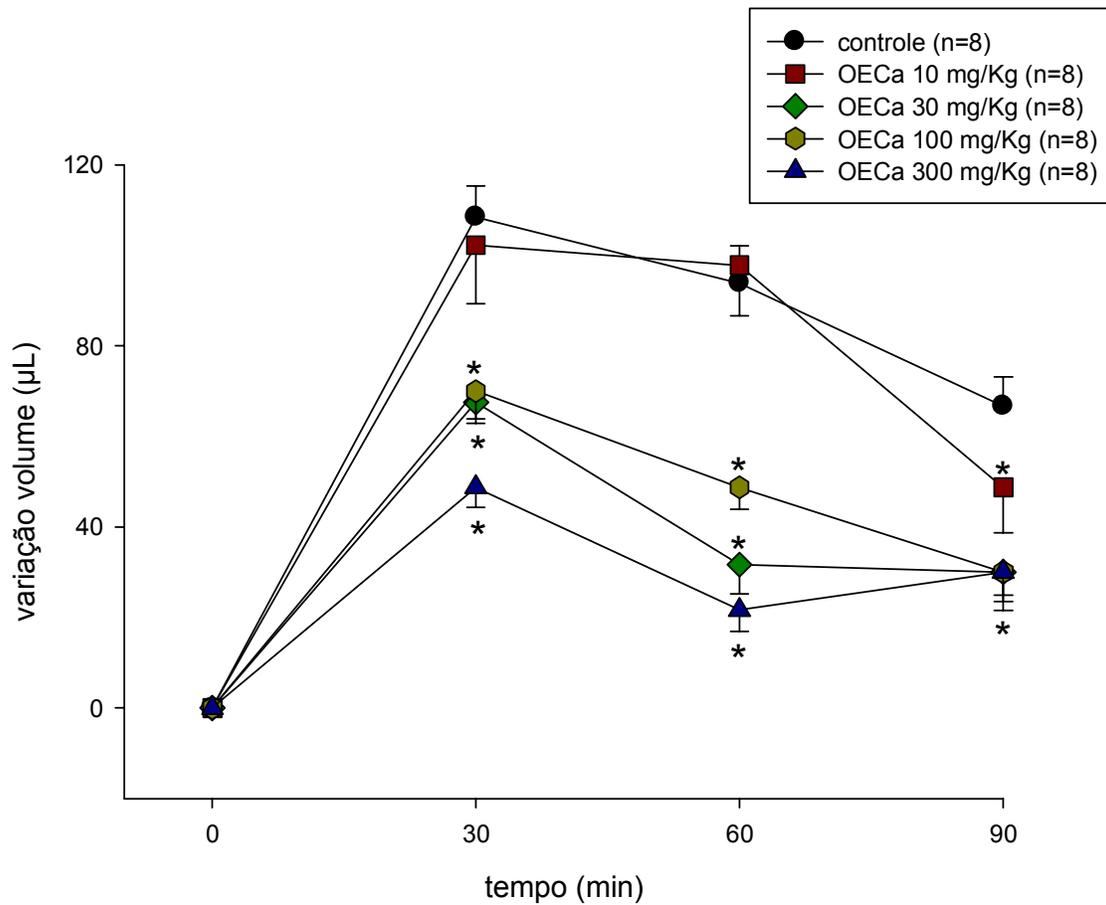


FIGURA 27: Efeito antiedematogênico do OECa, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de serotonina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de serotonina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de serotonina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.4.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por serotonina

Pode-se observar, na **FIGURA 28**, que a administração oral do α -pineno apresentou um significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por serotonina. Na dose de 100 mg/kg este efeito só foi encontrado no tempo 60 min, já na dose de 300 mg/Kg este efeito foi encontrado nos tempos de 30 e 60 min. No grupo controle os volumes de edema, respectivamente nos tempos de 30 e 60 min, foram de $102,7 \pm 7,6 \mu\text{L}$ e $98,0 \pm 8,4 \mu\text{L}$. No grupo tratado com α -pineno na dose de 100 mg/kg o volume de edema foi reduzido significativamente no tempo de 60 min para $61,0 \pm 6,2 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). E no grupo tratado com α -pineno na dose de 300 mg/kg os volumes de edema foram reduzidos significativamente, respectivamente nos tempos de 30 e 60 min, para $53,3 \pm 5,0 \mu\text{L}$ e $57,5 \pm 4,9 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). O alfa-pineno na dose de 30 mg/Kg não apresentou ação antiedematogênica em nenhum dos tempos avaliados.

4.3.4.3- Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por serotonina

Pode-se observar, na **FIGURA 29**, que a administração oral do trans-cariofileno apresentou um significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por serotonina. Na dose de 100 mg/kg este efeito só foi encontrado no tempo 60 min, já na dose de 300 mg/Kg este efeito foi encontrado nos tempos de 30 e 60 min. No grupo controle os volumes de edema, respectivamente nos tempos de 30 e 60 min, foram de $103,3 \pm 5,8 \mu\text{L}$ e $90,0 \pm 6,6 \mu\text{L}$. No grupo tratado com trans-cariofileno na dose de 100 mg/kg o volume de edema foi reduzido significativamente no tempo de 60 min para $60,0 \pm 5,7 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, teste T). E no grupo tratado com trans-cariofileno na dose de 300 mg/kg os volumes de edema foram reduzidos significativamente, respectivamente nos tempos de 30 e 60 min, para $77,1 \pm 8,6 \mu\text{L}$ e $41,2 \pm 3,9 \mu\text{L}$ ($p < 0,05$, ANOVA - Holm-Sidak). O trans-cariofileno na dose de 30 mg/Kg não apresentou ação antiedematogênica em nenhum dos tempos avaliados.

Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por serotonina

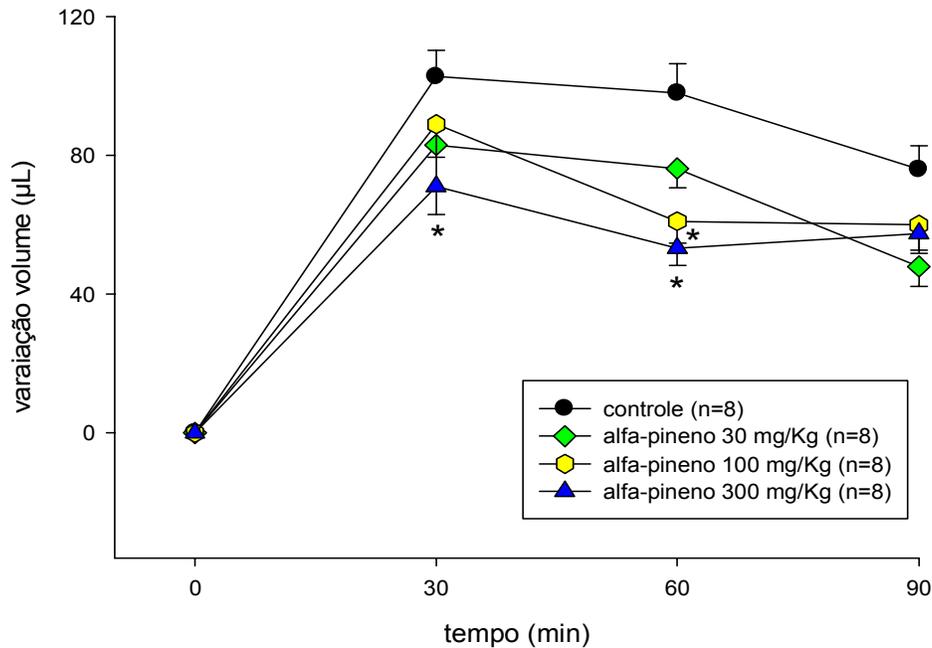


FIGURA 28: Efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de serotonina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de serotonina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de serotonina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do trans-cariofileno no edema de pata induzido por serotonina

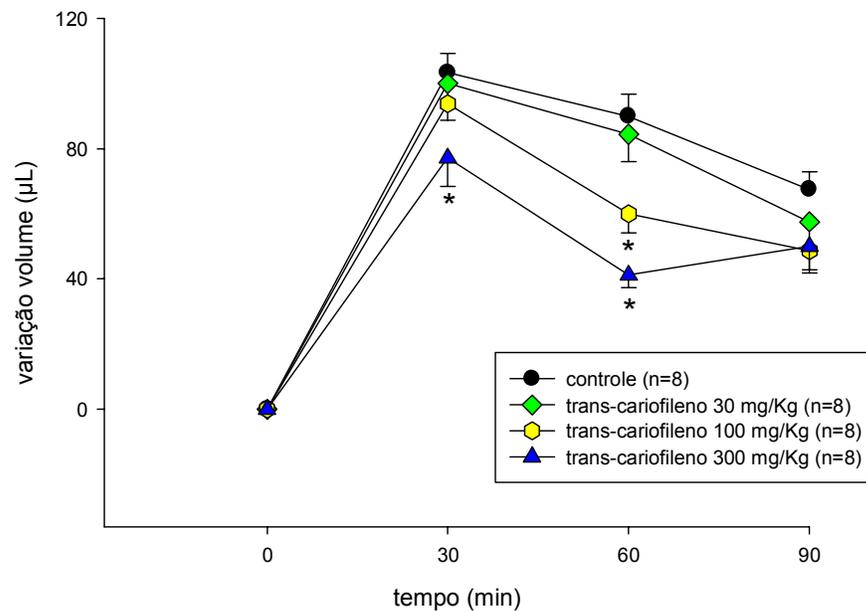


FIGURA 29: Efeito antiedematogênico do trans-cariofileno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de serotonina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de serotonina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de serotonina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.5- Efeito do OECa e alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina

4.3.5.1- Efeito do OECa no edema de pata induzido por bradicinina

Na **FIGURA 30** pode-se observar que a administração oral de OECa apresentou significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por bradicinina, para as duas doses testadas, somente no tempo de 20 min. No tempo de 20 min o volume médio de edema foi de $54,5 \pm 5,4 \mu\text{L}$ nos animais do grupo controle, já nos animais tratados com OECa houve uma redução significativa do volume de edema para $35,3 \pm 5,2 \mu\text{L}$ no grupo de animais tratados com OECa na dose de 10 mg/Kg e para $36,1 \pm 4,1 \mu\text{L}$ no grupo de animais tratados com OECa na dose de 10 mg/Kg ($p < 0,05$, teste T).

4.3.5.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina

Na **FIGURA 31** pode-se observar que a administração oral de alfa-pineno apresentou significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por bradicinina somente na dose de 100 mg/Kg e no tempo de 20 min, quando reduziu o volume de edema de $54,5 \pm 5,4 \mu\text{L}$, no grupo controle para $34,3 \pm 4,8 \mu\text{L}$ no grupo tratado ($p < 0,05$, teste T).

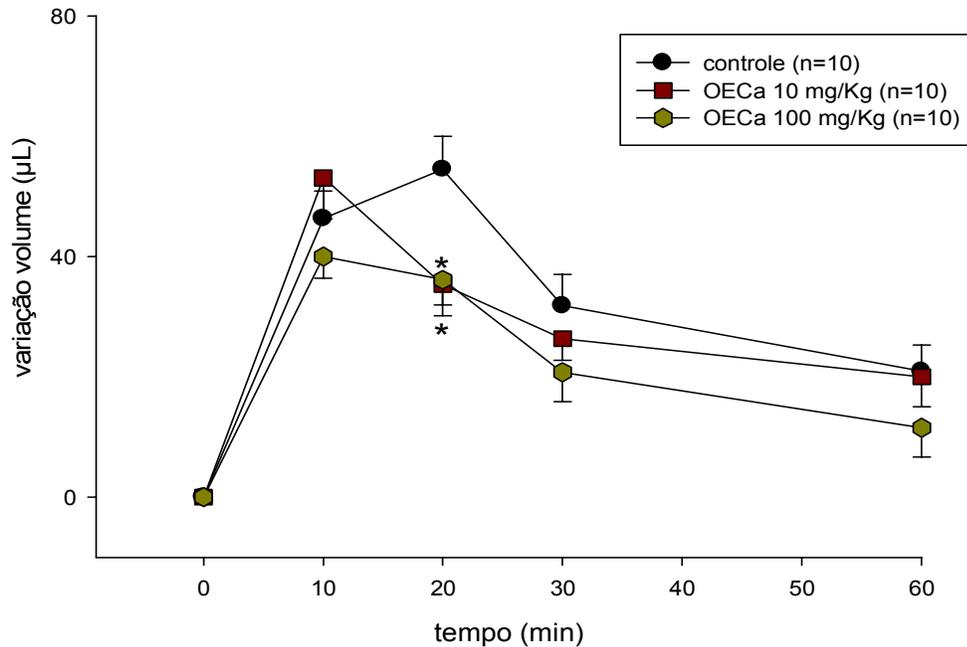


FIGURA 30: Efeito antiedematogênico do OECa, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de bradicinina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de bradicinina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de bradicinina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por bradicinina

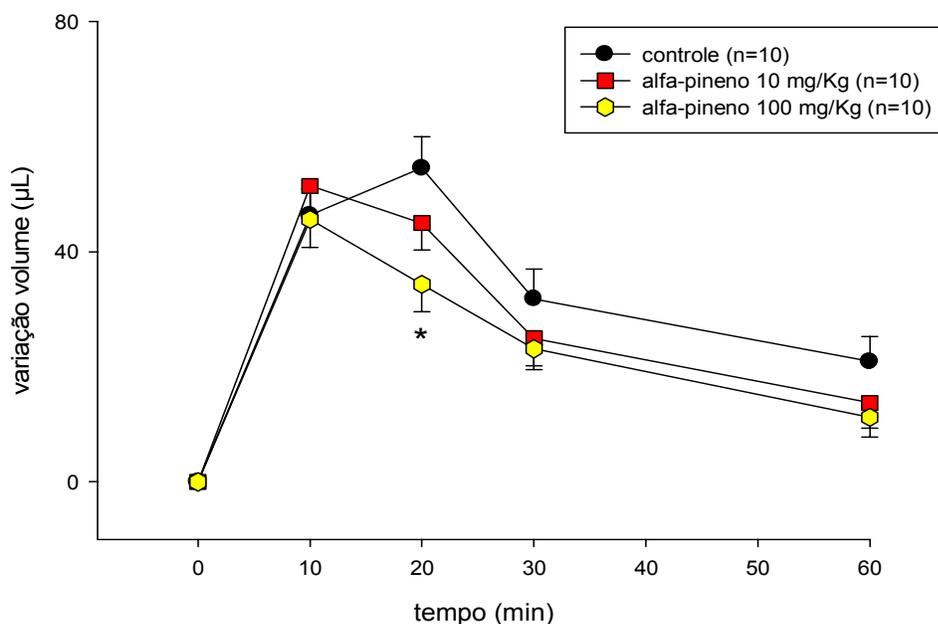


FIGURA 31: Efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de bradicinina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de bradicinina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de bradicinina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

4.3.6- Efeito do OECa e alfa-pineno no edema de pata induzido por histamina

4.3.6.1- Efeito do OECa no edema de pata induzido por histamina

De acordo com os dados mostrados na **FIGURA 32** pode-se observar que a administração oral de OECa apresentou significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por histamina, em ambas as dose testadas, somente no tempo de 20 min, quando reduziu o volume de edema de $54,5 \pm 5,4 \mu\text{L}$, no grupo controle para $35,3 \pm 6,8 \mu\text{L}$ no grupo tratado com OECa 10 mg/Kg e para $36,1 \pm 4,1 \mu\text{L}$ no grupo tratado com OECa 100 mg/Kg ($p < 0,05$, teste T).

4.3.6.2- Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por histamina

De acordo com os dados mostrados na **FIGURA 33** pode-se observar que a administração oral de alfa-pineno apresentou significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por histamina somente na dose de 100 mg/Kg e no tempo de 20 min, quando reduziu o volume de edema de $54,5 \pm 5,4 \mu\text{L}$, no grupo controle para $45,0 \pm 4,6 \mu\text{L}$ no grupo tratado ($p < 0,05$, teste T).

Efeito do OECa no edema de pata induzido por histamina

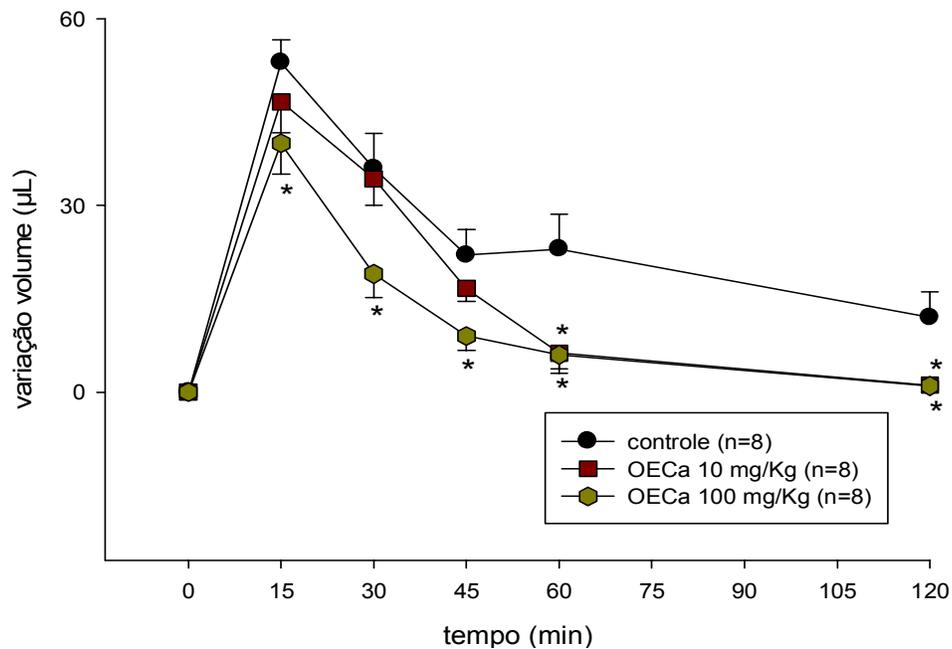


FIGURA 32: Efeito antiedematogênico do OECa, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de histamina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de histamina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de histamina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

Efeito do alfa-pineno no edema de pata induzido por histamina

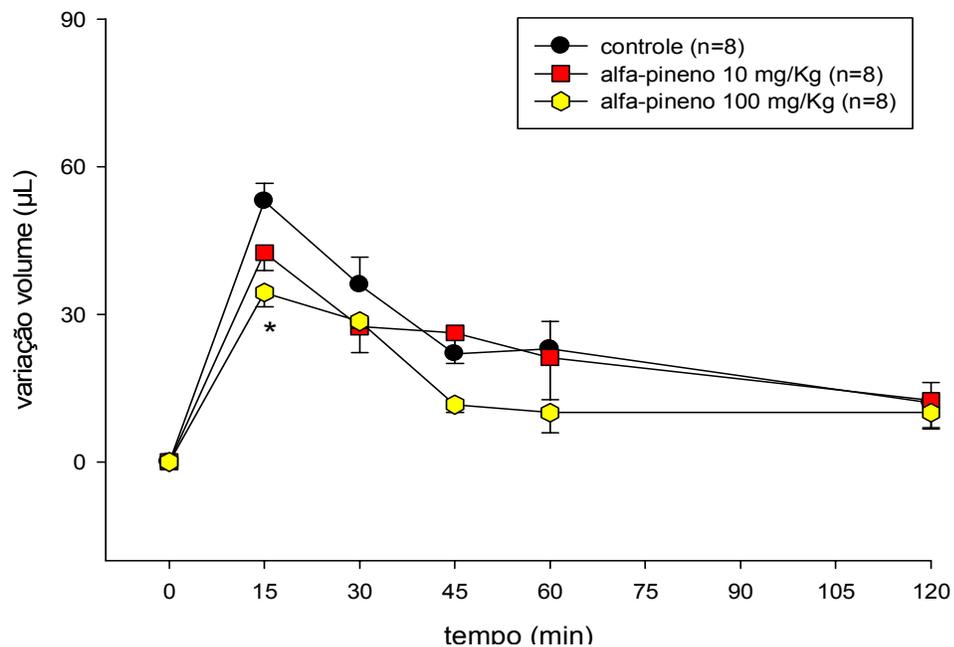


FIGURA 33: Efeito antiedematogênico do alfa-pineno, aplicado por via oral, no edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de histamina. Abscissa, tempo decorrido em minutos após a injeção de histamina; ordenada, variação do volume da pata em μL . Os pontos representam a média da variação do volume da pata direita após a injeção intra-plantar de histamina e as barras verticais o erro padrão da média. * $p < 0,05$, em relação ao grupo controle.

5.0- DISCUSSÃO

Neste trabalho demonstramos pela primeira vez o efeito antinociceptivo do alfa-pineno, utilizando modelos de nocicepção térmica (teste da placa quente) e química (testes das contorções abdominais, formalina e glutamato); estendemos os estudos relacionados ao efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, avaliando seu efeito nos testes da placa quente e do glutamato; aprofundamos os conhecimentos relativos ao mecanismo de ação do OECA e trans-cariofileno, investigando a participação do sistema opióide, dos receptores adrenérgicos e da via L-arginina/NO em seus efeitos antinociceptivos. Também apresentamos os resultados referentes à avaliação da atividade antiedematogênica do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno nos modelos de edema de pata induzidos por glutamato, dextrana, carragenina, serotonina, histamina e bradicinina.

Canuto, 2005, previamente demonstrou, em nosso laboratório, a atividade antinociceptiva e antiedematogênica do OECA. Desta forma, este trabalho tem como objetivo melhor compreender o mecanismo de ação deste óleo. Levando em consideração que os óleos essenciais são resultados de uma mistura de diversos compostos químicos (Simões *et al.*, 1999; Freitas *et al.*, 2004), estudar o efeito de cada um destes compostos separadamente é um método válido para compreender o mecanismo de ação de um óleo.

Iniciamos nossa investigação avaliando o efeito antinociceptivo do alfa-pineno, uma vez que este é um dos principais constituintes do OECA (o maior na amostra utilizada por Canuto, 2005, e o segundo maior na amostra aqui utilizada), além de estar presente na constituição de outros óleos que possuem comprovado efeito antinociceptivo (Santos *et al.*, 2005).

O teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético não é um modelo específico, mas as contorções involuntárias do abdômen podem ser de interesse devido sua similaridade com algumas das dores viscerais conhecidas e, através deste teste, podemos identificar drogas com efeito antinociceptivo, especialmente aquelas de ação periférica (Le Bars *et al.*, 2001; Adebisi *et al.*, 2006). Neste modelo o alfa-pineno apresentou um efeito

antinociceptivo dose-dependente que se mostrou mais efetivo na dose de 30 mg/Kg, quando alcançou uma inibição de 53,5 % no número de contorções (FIGURA 3).

A dor desencadeada pela administração de ácido acético intraperitonealmente está associada a mediadores, tais como a bradicinina, histamina e óxido nítrico, mas é resultado, principalmente, do aumento da liberação de prostaglandinas (Whittle, 1964; Abacioglu *et al.*, 2000). Desta forma, o efeito antinociceptivo do alfa-pineno no teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético, além de apontar para sua ação antinociceptiva periférica, pode indicar uma possível ação antiinflamatória que pode estar parcialmente ligada às enzimas ciclo-oxigenases.

No entanto, devido a falta de especificidade do teste das contorções abdominais, é necessário avaliar os resultados deste juntamente com os resultados de outros testes. Então, para continuar a investigação do efeito antinociceptivo do alfa-pineno escolhemos o teste da formalina, por este ser um modelo de dor mais específico.

O teste da formalina possui duas fases distintas, uma fase inicial, denominada neurogênica (resultado da estimulação direta dos nociceptores) e uma fase tardia, resultado do desenvolvimento de um processo inflamatório periférico (Shibata *et al.*, 1989; Tjolsen *et al.*, 1992). O alfa-pineno apresentou efeito antinociceptivo (dose-dependente) apenas na fase inicial, se mostrando mais efetivo em doses menores (10 e 30 mg/Kg), e perdendo o efeito em doses maiores (100 e 300 mg/Kg) (FIGURA 5).

A primeira vista este resultado parece contraditório se comparado ao obtido no teste das contorções abdominais, pois, uma vez que a dor característica da fase tardia da formalina, assim como a ocasionada pela injeção do ácido acético, é resultado de uma inflamação periférica mediada especialmente por bradicinina, histamina, óxido nítrico e prostaglandinas, era de se esperar que o alfa-pineno apresentasse o mesmo comportamento em ambas as situações, porém não foi o que ocorreu. No entanto, é importante ressaltar que a dor na fase tardia do teste da formalina, além de ser resultado do processo inflamatório periférico, deve-se a alterações no

corno dorsal induzidas pela fase inicial, podendo este ser o motivo das diferentes respostas encontradas (Shibata *et al.*, 1989).

O efeito antinociceptivo do alfa-pineno na primeira fase do teste da formalina aponta para sua possível ação central. Para confirmar esta ação central realizamos o teste da placa quente, uma vez que a placa quente, aquecida a uma temperatura constante e superior a 50 °C, produz comportamentos (pular e/ou lamber as patas), que são considerados respostas supraespinhais integradas (Le Bars *et al.*, 2001).

Com o teste da placa quente confirmamos a ação central do alfa-pineno, pois sua administração oral, na dose de 300 mg/Kg, foi capaz de aumentar significativamente o tempo de latência de resposta ao estímulo térmico nos tempos de 60 e 120 min (FIGURA 6). Avaliamos também o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno no teste da placa quente e constatamos que seu efeito, neste teste, é semelhante ao do alfa-pineno, apresentando efeito significativo exatamente na mesma dose e nos mesmos tempos (FIGURA 7).

Em conjunto, os resultados obtidos com o alfa-pineno e trans-cariofileno no teste da placa quente confirmam o resultado descrito por Canuto, 2005, no que diz respeito ao efeito antinociceptivo do OECA neste mesmo modelo, onde ele relata um efeito antinociceptivo do OECA já na dose de 30 mg/Kg, para os tempos de 60 e 120 min. Podemos também supor que os efeitos do alfa-pineno e trans-cariofileno podem estar se somando, ou até mesmo agindo de forma sinérgica, o que resultaria no efeito do OECA mesmo em uma dose 10 vezes menor do que aquela na qual conseguimos evidenciar a ação antinociceptiva tanto do alfa-pineno quanto do trans-cariofileno. Além disto, não podemos esquecer que existem outros constituintes do OECA que podem ser responsáveis por este efeito antinociceptivo no teste da placa quente.

Outro modelo válido na investigação do efeito antinociceptivo é o teste do glutamato, uma vez que os receptores ionotrópicos, localizados em terminais aferentes primários presentes na pele, ativados pela injeção intraplantar de glutamato, resulta em comportamento nociceptivo, o qual pode ser bloqueado por antagonistas específicos. Foi também constatado que a quantidade de glutamato presente na medula espinhal está elevada logo após a ativação química de

nociceptores, sugerindo que o glutamato é liberado a partir destes terminais aferentes primários (Aanonsen e Wilcox, 1990; Groot *et al.*, 2000). Além disso, existe uma íntima relação entre o teste da formalina e a liberação de glutamato, tendo sido demonstrado que antagonistas de receptores NMDA e não-NMDA causam antinocicepção no modelo da formalina (Dougherty *et al.*, 1992; Halley *et al.*, 1992; Beirith, 1998; Omote *et al.*, 2000; Berrino *et al.*, 2001).

Os resultados apresentados pelo OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no teste do glutamato (FIGURAS 8, 9 E 10) fornecem indícios de que seus mecanismos de ação estão relacionados, pelo menos em parte, com o glutamato, pois os três compostos foram capazes de diminuir significativamente a resposta dolorosa induzida pela injeção intraplantar do glutamato. Esta provável interação com a via glutamatérgica é, possivelmente, um dos fatores responsáveis pelo efeito antinociceptivo do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno no teste da formalina.

O composto que apresentou melhor resultado no teste do glutamato foi o trans-cariofileno, sendo capaz de inibir a resposta dolorosa já na dose de 100 mg/Kg, o que não foi observado para os demais compostos avaliados. Na dose de 300 mg/Kg o trans-cariofileno (49,7 %) alcançou uma porcentagem de inibição significativamente superior à apresentada pelo alfa-pineno (38 %). Uma vez que o OECA não apresentou efeito significativo na dose de 300 mg/Kg optamos por testar a dose de 600 mg/Kg, e nesta dose foi possível evidenciar a participação do sistema glutamatérgico no efeito antinociceptivo deste.

Dados na literatura mostram que a injeção intratecal de glutamato em camundongos produz uma hiperalgesia dose-dependente largamente mediada pela via L-arginina-NO (Meller e Gebhart, 1993; Ferreira *et al.*, 1988). Também tem sido demonstrado que o mecanismo antinociceptivo mediado pelos receptores NMDA na ACP envolve, pelo menos em parte, a síntese de NO. A ativação dos receptores NMDA leva a ativação das enzimas óxido nítrico sintase, com conseqüente aumento na produção de óxido nítrico e de GMPc (Ignaro, 1991; Krumanekker *et al.*, 2004; Miguel e Nunes-de-Souza, 2006).

Uma vez que a via L-arginina-NO está relacionada à ativação de receptores NMDA e que o mecanismo de ação do OECA e do trans-cariofileno está relacionado, pelo menos em parte,

com o glutamato, decidimos investigar a participação da via L-arginina óxido nítrico no efeito antinociceptivo de ambos. Para tal escolhemos o teste da formalina, pois Dubuisson e Dennis, 1977, acreditam que este teste provê um válido modelo para avaliar dor clínica.

O efeito antinociceptivo do OECA e do trans-cariofileno, no teste da formalina, foi previamente demonstrado por Canuto, 2005. No entanto, como estamos trabalhando com uma amostra de OECA de composição diferente da utilizada por Canuto em 2005, realizamos uma curva dose-resposta para confirmar o efeito desta amostra de OECA no citado teste. Assim como Canuto, 2005, encontramos um efeito antinociceptivo do OECA, porém, diferente dele, evidenciamos um efeito antinociceptivo do óleo, na dose de 300 mg/Kg, já na primeira fase do teste (FIGURA 4). Esta diferença de resultado pode ser explicada pela diferente constituição entre a amostra usada por Canuto, 2005 (que contém, em % do peso do óleo, alfa-pineno, 20,6; espatuleno, 13,3; trans-cariofileno, 10,6; beta-felandreno, 8,3; beta-elemeno, 2,9 e 1,8-cineol, 2,3 como constituintes majoritários) e a que foi aqui avaliada (que contém, em % do peso do óleo, espatulenol, 34,37; alfa-pineno, 18,98; 1,8-cineol, 12,99; óxido de cariofileno, 7,63; beta-felandreno, 5,05 como constituintes majoritários). Podemos ainda propor que o alfa-pineno pode ser um dos grandes responsáveis pelo efeito antinociceptivo do OECA, pois este é encontrado em quantidade proporcionalmente alta em ambas as amostras citadas.

Embora o trans-cariofileno só esteja presente na amostra de OECA utilizada por Canuto, 2005, optou-se por investigar seu mecanismo de ação no teste da formalina, pois este teve seu efeito antinociceptivo evidenciado, em ambas as fases do teste, na dose de 300 mg/Kg. Já o alfa-pineno, presente em ambas as amostras, não apresentou efeito antinociceptivo na segunda fase do teste.

Embora a atividade pró e antinociceptiva do NO na dor ainda seja intensamente discutida, já foi bem documentada a participação do NO no comportamento nociceptivo induzido pela injeção intraplantar de formalina, sendo que neste modelo a produção de NO é dependente da ativação de receptores NMDA no sistema nervoso periférico (Moore *et al.*, 1993; Gao e Quiao, 1998; Abacioglu *et al.*, 2000; Omote *et al.*, 2000).

Nossos resultados mostram que a antinocicepção causada pelo OECA e trans-cariofileno, em relação a nocicepção induzida pela formalina, parece envolver algum tipo de interação com a via do NO, já que o tratamento dos animais com L-arginina reverteu o efeito antinociceptivo de ambos (FIGURAS 13 e 14). Estes dados reforçam as evidências de que o mecanismo de ação do OECA e do trans-cariofileno envolvem a participação do glutamato.

Como já foi ressaltado na introdução deste trabalho, o óxido nítrico é sintetizado a partir da L-arginina pela enzima óxido nítrico sintase (NOS). Existem três isoformas de NOS, sendo elas a NOS endotelial (NOSe), a NOS neuronal (NOSn) e a NOS induzida (NOSi). As NOSe e NOSn são ativadas por Ca^{2+} , enquanto a NOSi é independente de Ca^{2+} e é sintetizada quando uma grande variedade de tipos de células são expostas a endotoxinas e/ou citocinas inflamatórias (Palmer *et al.*, 1988; Nussler e Billiar, 1993; Lyons, 1995).

Embora os inibidores da NOS aparentemente tenham pouco ou nenhum efeito na transmissão nociceptiva sobre condições normais, existem amplas evidências de que inflamação periférica e/ou lesões no sistema nervoso central aumentam a atividade da NOS, o que pode ser responsável por numerosas sensações relacionadas à dor (Meller *et al.*, 1992; Meller e Gebhart, 1993; Semos e Headley, 1994).

Na primeira fase do teste da formalina o NO é produzido predominantemente pela NOSe. Na segunda fase as isoformas neuronal e induzida da NOS modulam o comportamento doloroso através de uma via não relacionada ao NO, além de ocorrer a regulação da produção de NO pela NOSe (Doursout *et al.*, 2003). Uma vez que o efeito antinociceptivo do OECA não foi revertido na primeira fase do teste da formalina, podemos supor que ele não está relacionado à isoforma endotelial da NOS, podendo pois estar relacionado com a NOSn e/ou NOSi. Já o trans-cariofileno, que teve seu efeito antinociceptivo revertido em ambas as fases do teste, pode agir através de interação com as três isoformas da NOS.

Anteriormente, propusemos, nesta discussão, com base nos resultados obtidos no teste das contorções abdominais, que o efeito antinociceptivo do alfa-pineno pudesse se dever a uma possível ação antiinflamatória parcialmente ligada às enzimas ciclo-oxigenases. Resultados

semelhantes aos nossos foram observados por Canuto, 2005, para o OECA e trans-cariofileno no teste das contorções abdominais.

Vários relatos descrevem que as vias da NOS e da COX interagem largamente: o NO pode estimular a atividade da COX; COX₂ e NOS α são acionada pelas mesmas citocinas; no teste da formalina, inibidores seletivos de NOS α administrados oralmente com inibidores da COX₂ produzem um efeito antinociceptivo sinérgico em camundongos (Mitchel *et al.*, 1993; Salvemini *et al.*, 1993; Dudhgaonkar *et al.*, 2004). Tais achados mutuamente reforçam as evidências de que o mecanismo de ação do OECA e do trans-cariofileno pode envolver vias relacionadas ao óxido nítrico e às prostaglandinas.

Diversas evidências apontam para a participação do sistema noradrenérgico na modulação da dor (Levine *et al.*, 1986; Haws *et al.*, 1990; Davis *et al.*, 1991; Peng *et al.*, 1996; Cui *et al.*, 1999). Tem sido ainda sugerido que o NO possui papel modulador no efeito antinociceptivo da clonidina, um agonista adrenérgico (Przesmycki *et al.*, 1999). Especificamente no teste da formalina a noradrenalina liberada nos terminais periféricos primários tem importante papel modulador, antagonistas de adrenoceptores α_2 e receptores serotoninérgicos aumentam o comportamento doloroso na primeira e segunda fase do teste, bem como no período intermediário (Coderre, 1993; Omote *et al.*, 1998).

Os receptores adrenérgicos são divididos em diversos tipos e subtipos e os subtipos de adrenoceptores envolvidos na dor dependem da espécie e de sua localização, o que faz com que algumas vezes os dados relativos à participação dos adrenoceptores na nocicepção sejam aparentemente contraditórios (Bie *et al.*, 2003).

Dados da literatura mostram um aumento no índice de dor após o uso de agonistas de adrenoceptores α_1 e, no teste da formalina e que o bloqueio de adrenoceptores α_{1A} atenua a dor, implicando que mecanismos adrenérgicos periféricos contribuem para a manutenção da dor (Hong e Abbott, 1996; Davis *et al.*, 1991; Chabal *et al.*, 1992). Por outro lado a injeção sistêmica de agonistas de adrenoceptores α_1 atenua a dor induzida por formalina (Tasker *et al.*, 1992). Bie

e colaboradores, 2003, demonstraram que os adrenoreceptores $\alpha 1$ excitatórios estão presentes em células primárias e secundárias do núcleo magno da rafe. Nas células secundárias, que facilitam a transmissão nociceptiva e são inibidas por analgésicos opióides, o bloqueio destes receptores $\alpha 1$ reduziu significativamente a hiperalgesia induzida pela abstinência opióide. Por outro lado, nas células primárias, que são ativadas, pelo menos parcialmente, por “inputs” adrenérgicos através de adrenoreceptores $\alpha 1$, esta ativação mediada por adrenoreceptores $\alpha 1$ contribui para analgesia induzida pela ativação de receptores opióides tipo μ na ACP (Bie *et al.*, 2003).

Nossos dados mostram que nem o OECA, nem o trans-cariofileno utilizam os receptores adrenérgicos $\alpha 1$ em seu efeito antinociceptivo na primeira fase do teste da formalina. Por outro lado, na segunda fase do teste o efeito de ambos envolve, em parte, estes receptores, uma vez que foi significativamente revertido pelo pré-tratamento com o prazosin (FIGURAS 15 e 16). Neste caso, não podemos excluir a possibilidade da participação da via opióide no mecanismo de ação antinociceptivo do OECA e do trans-cariofileno.

Os dados relativos ao envolvimento dos adrenoreceptores $\alpha 2$ na periferia são contraditórios, por outro lado, foi demonstrado que a ativação de adrenoreceptores $\alpha 2$ no SNC produz analgesia e/ou antinocicepção descendente em diversos modelos de dor em animais e que a antinocicepção resultante da aplicação espinal ou supraespinal de agonistas adrenoreceptores $\alpha 2$, se deve à ativação direta de receptores $\alpha 2$ (Levine *et al.*, 1986; Petrovaara, 1993; Davis *et al.*, 1991; Khasar *et al.*, 1995; Hamalainen e Pertovaara, 1995). Tal ativação promove uma inibição pré-sináptica da liberação de neurotransmissores de fibras C e/ou hiperpolarização pós-sináptica de neurônios de alta variação dinâmica na medula espinal (Fleetwood-Walker *et al.*, 1985; Go e Yaksh, 1987). Tem sido sugerido que esta habilidade de bloquear a liberação de neurotransmissores de fibra C pode prevenir, especialmente, o desenvolvimento do aumento no processamento espinal que ocorre na segunda fase do teste da formalina (Malmberg e Yaksh, 1993).

O efeito antinociceptivo do OECA, em ambas as fases do teste da formalina, depende dos adrenoreceptores $\alpha 2$, uma vez que foi parcialmente revertido pelo pré-tratamento com a ioimbina. Por outro lado, o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno não se deve à interação

com adrenoceptores $\alpha 2$ uma vez que sua ação antinociceptiva não foi revertida pelo pré-tratamento com ioimbina (FIGURAS 17 e 18).

Estudos indicam que receptores opióides do tipo μ não apresentam papel importante na antinocicepção aguda mediada por adrenoceptores $\alpha 2$. Contudo, na presença de inflamação, os receptores opióides do tipo μ apresentam grande importância na ação anti-hiperalgésica de agonistas de adrenoceptores $\alpha 2$ (Mansikka *et al.*, 2002). Estes dados reforçam a idéia da participação da via opióide no mecanismo de ação antinociceptivo do OECa.

Diversas linhas de evidências indicam que opióides produzem antinocicepção via interação com sítios centrais, a antinocicepção induzida por opióides clássicos, tais como a morfina, é principalmente atribuída aos seus efeitos no SNC (Stein *et al.*, 1989). Somada a esta ação central, estudos mais recentes mostram que opióides podem produzir anti-hiperalgesia e antialodinia agindo em sítios periféricos (Dehaven-Hudkins *et al.*, 1999; Obara *et al.*, 2007).

Sabe-se que o componente inflamatório é necessário para a expressão completa da antinocicepção opióide periférica provavelmente porque após inflamação ocorre a abertura da bainha perineural, permitindo o acesso a receptores opióides presentes nos terminais nervosos (Hassan *et al.*, 1993; Antonijevic *et al.*, 1995; Stein, 1995). Além disto, em quadros inflamatórios ocorre aumento da expressão de RNAm (ácido ribonucléico mensageiro) para precursores de peptídeos opióides e os linfócitos, os quais produzem β -endorfinas, migram para o tecido inflamado, onde o peptídeo é liberado (Przesmycki *et al.*, 1992). Foi ainda comprovado que a administração local periférica de agonistas opióides reverte a hiperalgesia produzida por ácido acético, carragenina, capsaicina e formalina. No teste da formalina, agonistas opióides podem produzir efeitos por mecanismos centrais e/ou periféricos. Sendo que seu efeito periférico pode se dar devido à interação com receptores opióides periféricos localizados em terminais nervosos periféricos ou através de sua interação com células imunes (Perrot *et al.*, 1999; Ko *et al.*, 2000).

Com relação ao OECa, sua ação opioidérgica central já foi evidenciada através do teste da placa quente (Canuto, 2005). Neste estudo pudemos constatar que o efeito

antinociceptivo do OECa na primeira fase do teste da formalina não envolve a participação do sistema opióide, uma vez que não foi revertido pelo pré-tratamento com naloxona. Já na segunda fase do teste observamos uma considerável reversão do efeito antinociceptivo do OECa pelo pré-tratamento com naloxona (FIGURA 11).

Sabendo que a segunda fase do teste da formalina é dominada por um processo inflamatório, e que agonistas opióides de ação periférica necessitam do componente inflamatório para expressar seu efeito antinociceptivo, pudemos supor que ação opióide do OECa se deve, em parte, a uma ação periférica. Dados semelhantes foram relatados por Obara e colaboradores, 2007; eles constataram que um agonista opióide foi mais potente na segunda fase do teste da formalina, a qual é dominada por processos inflamatórios específicos, em contraste com a primeira fase, na qual o processo inflamatório ainda não está presente.

O sistema de transdução do sinal de receptores opióides ativados periféricamente não está claro. Contudo, após a ocupação do receptor opióide nos neurônios aferentes primários, existem dois mecanismos de ação possíveis para o efeito antinociceptivo. Primeiro, a excitabilidade neuronal ou a propagação do potencial de ação pode ser inibido (Stein, 1995). Segundo, a liberação de neurotransmissores excitatórios a níveis centrais e periféricos pode ser inibida (Yaksh, 1988).

Loperamida, um agonista opióide, produz anti-hiperalgesia através de sua acessibilidade aos receptores opióides periféricos. Tais dados suportam a idéia de que os opióides apresentam grande importância na antinocicepção local a nível dos nervos aferentes primários e que estes efeitos locais podem ser dissociados da analgesia central mediada por alguns agonistas opióides (Dehaven-Hudkins *et al.*, 1999).

Com relação ao trans-cariofileno, já discutimos sua provável ação opioidérgica central. Podemos agora somar a esta discussão sua ação opioidérgica no controle da dor neurogênia (evidenciada pela reversão de seu efeito na primeira fase do teste da formalina pelo pré-tratamento com naloxona), e sua possível ação opioidérgica periférica (evidenciada pela

reversão de seu efeito na segunda fase do teste da formalina pelo pré-tratamento com naloxona) (FIGURA 12).

Mesmo com base em todos os dados recém discutidos ainda não é possível definir completamente o mecanismo de ação antinociceptivo do OECa, alfa-pineno ou trans-cariofileno. Porém muito já foi elucidado, e todos os dados apontam para a possível utilização do OECa, alfa-pineno e trans-cariofileno como fármacos analgésicos.

Como foi constatado através dos testes das contorções abdominais e da segunda fase do teste da formalina o OECa, alfa-pineno e trans-cariofileno possuem efeito antinociceptivo na dor de origem inflamatória. Tendo em vista a íntima relação entre os processos dolorosos e inflamatórios, em paralelo à investigação do mecanismo de ação antinociceptivo do OECa, alfa-pineno e trans-cariofileno, analisamos o efeito destes compostos químicos sobre um dos sinais da inflamação, o edema. Para tal utilizamos os modelos de edemas de pata induzidos por glutamato, dextrana, carragenina, serotonina, bradicinina e histamina.

A inflamação aguda da pata é caracterizada pela migração de células inflamatórias no sistema microvascular e a entrada de fluido no tecido intersticial. Estes eventos são induzidos por mediadores inflamatórios os quais se ligam a receptores específicos nas células inflamatórias e endoteliais (Doerschulk *et al.*, 1999; Saito *et al.*, 2002).

A dextrana é um polissacarídeo de alto peso molecular que induz reações anafiláticas depois de sua injeção na pata de ratos, a qual é caracterizada pelo extravasamento e formação de edema, como consequência da liberação de histamina e serotonina dos mastócitos (Van Wauve e Goosens, 1989).

O edema de pata induzido por dextrana foi significativamente diminuído nos animais pré-tratados, via oral, com OECa ou trans-cariofileno na dose de 100 mg/kg. Já o pré-tratamento, via oral, com o alfa-pineno na dose de 100 mg/Kg não foi capaz de reverter a ação edematogênica da dextrana (FIGURAS 22, 23 e 24).

Demonstramos neste estudo que tanto o OECa quanto o trans-cariofileno fazem uso, pelo menos em parte, de adrenoceptores no seu mecanismo de ação antinociceptivo. É possível que a interação com adrenoceptores seja também uma das vias utilizadas no efeito antiedematogênico de ambos os compostos, pois foi demonstrado que o pré-tratamento de ratos com várias catecolaminas diminui a reação inflamatória resultante da administração de dextrana. Estas catecolaminas podem agir diretamente sobre mastócitos, via α - e β -adrenoceptores, prevenindo a liberação de histamina e de outros fatores vasoativos (Baxter *et al.*, 1974).

O edema de pata induzido por carragenina é muito usado como modelo experimental *in vivo* para a avaliação do potencial antiinflamatório de extratos de plantas, sendo um modelo padrão para a avaliação de inflamação aguda (Okpo *et al.*, 2001; Chattopadhyay *et al.*, 2002; Perianayagam *et al.*, 2006). Além disto, este modelo é muito sensível a ação de drogas antiinflamatórias não-esteroidais (Morris, 2003).

A injeção intraplantar de carragenina resulta em uma resposta inflamatória caracterizada por aumento no edema de pata tempo-dependente, infiltração de neutrófilos, aumento nos níveis de diversos mediadores no exudato da pata e pelo desenvolvimento de hiperalgesia a estímulos térmicos e mecânicos (Morris, 2003). O edema induzido por carragenina possui duas fases: a fase inicial (0-1h), mediada pela liberação de histamina e serotonina e caracterizada por um infiltrado celular difuso, com predominância de neutrófilos polimorfonucleares; a segunda fase (após 1h), mediada pela liberação de prostaglandinas e bradicinina e caracterizada por um infiltrado composto por macrófagos, eosinófilos e, predominantemente, linfócitos; a continuidade entre as duas fases é mediada por cininas (Di Rosa *et al.*, 1971; Rocha e Ferreira, 1986). Estudos mais recentes mostram ainda que a carragenina induz uma liberação periférica de NO, produção esta mediada por NOSn na fase inicial e pela NOSn e NOSi na fase tardia (Omote *et al.*, 2001).

O OECa e o alfa-pineno apresentaram significativo efeito antiedematogênico com relação ao edema de pata induzido por carragenina, tanto na primeira quanto na segunda fase do teste (FIGURAS 25 e 26). Resultados semelhantes foram descritos por Fernandes e colaboradores, 2007, para o trans-cariofileno. Estes resultados indicam que o mecanismo de ação

antiedematogênico do OECA, do alfa-pineno e trans-cariofileno pode envolver as vias da serotonina e/ou histamina, e as vias da bradicinina e/ou prostaglandinas.

Já foi demonstrado que o trans-cariofileno diminui significativamente o edema de pata induzido por bradicinina, mas não é capaz de diminuir significativamente o edema de pata induzido por histamina. Também foi demonstrado que o pré-tratamento, via oral, com o trans-cariofileno inibiu significativamente a expressão de COX₂ e NOS_i induzida pela injeção intraplantar de carragenina (Fernandes *et al.*, 2007).

Tais resultados confirmam e explicam o efeito antiedematogênico do trans-cariofileno na segunda fase do modelo de edema de pata induzido por carragenina, mas deixa uma lacuna acerca da compreensão de seu efeito na primeira fase do teste. Na tentativa de preencher esta lacuna e de melhor compreender o mecanismo de ação do OECA e do alfa-pineno realizamos o modelo de edema de pata induzido por serotonina.

Alguns dados comprovam que a serotonina pode modular a resposta inflamatória através de sua ação central sob células imunes e liberação de mediadores (Serafeim e Gordon, 2001). Também foi demonstrado que a injeção intraplantar de serotonina produz uma marcada resposta inflamatória na pata apresentando um papel importante na alteração do tônus vascular e da permeabilidade, as quais contribuem para o extravasamento de fluido. Desta forma, a injeção intraplantar de serotonina tem sido usada como modelo de inflamação aguda em camundongos (Cole *et al.*, 1994; Fernandes *et al.*, 2007).

O OECA, o alfa-pineno e o trans-cariofileno foram capazes de inibir significativamente o edema de pata induzido por serotonina (FIGURAS 27, 28 e 29). Não é possível determinar, ao certo, se o efeito antiedematogênico no modelo de serotonina deve-se a inibição de sua síntese, liberação ou ação. Também não é possível determinar se suas ações se devem a modulação periférica local e/ou ação central, no entanto, é possível comprovar que, pelo menos em parte, o efeito antiedematogênico do OECA, alfa-pineno e trans-cariofileno, na primeira fase do modelo de edema induzido por carragenina, deve-se a interações com a via serotoninérgica.

O mecanismo da primeira fase do edema de pata induzido por carragenina envolve, além da serotonina, histamina, agindo largamente via receptores H_2 (Al-Haboubi e Zeitlin, 1983). Foi demonstrado ainda que existe uma co-relação entre a concentração total de histamina no exudato e o grau de edema produzido pela aplicação de dextrana. Estes resultados sugerem que a liberação de histamina não é o resultado, mas uma das causas da formação de edema induzidos por dextrana (Nishida *et al.*, 1978).

Os mastócitos são uma das maiores fontes de histamina e sua degranulação leva a uma rápida liberação de histamina (Guo *et al.*, 1997). A histamina é um dos mais importantes mediadores da inflamação, age como potente vasodilatador, aumenta a permeabilidade vascular, ativa o sistema complemento e células endoteliais, atua ainda no recrutamento de leucócitos e na formação de edema. Este edema provavelmente é consequência da ação vascular bem como neuronal da histamina (Amann *et al.*, 1995; Linard *et al.*, 2002).

O OECA, na dose de 100 mg/Kg, apresentou significativo efeito antiedematogênico no modelo de edema de pata induzido por histamina em todos os tempos avaliados (FIGURA 32). Por outro lado, o alfa-pineno só apresentou significativo efeito antiedematogênico neste modelo, na mesma dose, no tempo de 15 min (FIGURA 33). Já o trans-cariofileno, como foi relatado por Fernandes e colaboradores, 2007, não apresentou efeito neste modelo.

Com relação ao OECA, é possível que ele esteja agindo a nível de inibição da síntese, liberação e/ou ação da histamina. Já os seus constituintes, alfa-pineno e trans-cariofileno, só poderiam estar agindo em nível de inibição da síntese e/ou liberação da histamina, uma vez que não foram capazes de inibir sua ação.

As cininas reproduzem diversos processos inflamatórios que também são induzidos por citocinas, incluindo aumento na permeabilidade capilar, estímulo da síntese de eicosanóides e a indução da proliferação de tecido conectivo. Diversas linhas de evidências sugerem que a bradicinina possui um potente efeito na formação de edema apresentando importante papel na geração e manutenção da inflamação crônica (Erdos, 1979; Tiffany e Burch, 1989; Ueno *et al.*,

1998). Os receptores B₁ e B₂ estão envolvidos, respectivamente, na iniciação e manutenção da inflamação (Dray e Perkins, 1993). Dados também demonstram que um antagonista de receptores de bradicinina apresenta efeito antinfamatório no edema de pata induzido por carragenina (Costello e Hargreaves, 1989; Ikeda *et al.*, 2001).

Tanto o OECa quanto o alfa-pineno apresentaram efeito no edema de pata induzido por bradicinina somente na dose de 100 mg/Kg e no tempo de 20 min (FIGURAS 30 e 31). Com este resultado podemos supor que a possível ação de ambos sobre a via da bradicinina se restringe a inibição da síntese e/ou liberação desta, uma vez que não foram capazes de inibir sua ação de forma eficiente.

Embora não possamos descartar o uso da via da bradicinina no efeito antiedematogênico do OECa e do alfa-pineno, é bem possível que o efeito de ambos na segunda fase do modelo de edema de pata induzido por carragenina deva-se principalmente à sua ação sobre a via das prostaglandinas, uma vez que algumas evidências (apontadas pelos resultados anteriormente descritos nesta discussão acerca do efeito antinociceptivo do OECa e alfa-pineno) sugerem a interação destes compostos com esta via.

Neste trabalho já foi discutida a participação da via glutamatérgica no efeito antinociceptivo do OECa, alfa-pineno e trans-cariofileno, mostrando que, pelo menos em parte, estes três compostos fazem uso desta via no que diz respeito à sua ação antinociceptiva. Porém, enquanto a nocicepção causada pela injeção intraplantar de glutamato é claramente mediada por fibras sensíveis a capsaicina e pela liberação de neurocininas, a partir de neurônios sensoriais, que ativam receptores NK₁ e em menor extensão os receptores NK₂; o edema mediado pelo glutamato parece ser mediado principalmente pela ativação de receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK₂, a estimulação de fibras C sensíveis a capsaicina e a liberação de óxido nítrico (Beirith *et al.*, 2002; Beirith *et al.*, 2003).

Os resultados aqui obtidos comprovam que a nocicepção e o edema induzidos por glutamato podem ser mediados por vias diferentes uma vez que o OECa apresentou efeito antinociceptivo no teste do glutamato, mas não foi capaz de reverter o edema induzido pela

injeção intraplantar de glutamato (FIGURA 19). Tal resultado aponta para o fato de que o OECA deve interagir especialmente com receptores do tipo NK_1 e NMDA, não interagindo ou interagindo em menor quantidade com receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK_2 .

Por outro lado, tanto o alfa-pineno quanto o trans-cariofileno apresentaram efeito antiedematogênico com relação ao edema induzido por glutamato nas mesmas doses em que apresentaram efeito antinociceptivo no teste do glutamato, mostrando que ambos os compostos interagem de forma mais ampla com os receptores glutamatérgicos (FIGURAS 20 e 21).

Baseado nestes resultados podemos afirmar que o OECA, bem como seus constituintes, alfa-pineno e trans-cariofileno, de forma isolada, apresentam significativo efeito antiedematogênico. De posse dos dados que obtivemos até agora ainda não é possível esclarecer completamente o mecanismo de ação antiedematogênico dos três compostos, mas é possível dizer que eles podem possuir relevância terapêutica no tratamento de doenças inflamatórias.

6.0- CONCLUSÕES

1- O alfa-pineno apresenta efeito antinociceptivo periférico sobre a dor de origem inflamatória característica do teste das contorções abdominais. É provável que o alfa-pineno atue em sítios centrais, uma vez que foi capaz de aumentar o tempo de latência de resposta a estímulo térmico (teste da placa quente – 55 °C) e reduzir significativamente o tempo de lambida da pata na primeira fase do teste da formalina. Uma das vias usadas pelo alfa-pineno em sua ação antinociceptiva é a via glutamatérgica.

2- O trans-cariofileno pode atuar em sítios centrais, conforme demonstrado no teste da placa quente. Uma das vias usadas pelo trans-cariofileno em sua ação antinociceptiva é a via glutamatérgica, como demonstrado no teste do glutamato. Utilizando o teste da formalina demonstramos que o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno, na primeira fase do teste, deve-se, em parte, à sua interação com o sistema opióide e com a via L-arginina/óxido nítrico, mas não

se deve a interações com os α 1- e α 2-adrenoceptores. Já na segunda fase do teste, o efeito antinociceptivo do trans-cariofileno deve-se, em parte, à via opióide, à via L-arginina/óxido e a interações com os α 1-adrenoceptores, mas não envolve interações com os α 2-adrenoceptores.

3- Uma das vias usadas pelo OECA em sua ação antinociceptiva é a via glutamatérgica, como demonstrado no teste do glutamato. A ação antinociceptiva do OECA na primeira fase do teste da formalina deve-se, em parte, a interações com os α 2-adrenoceptores, mas não se deve a interações com os α 1-adrenoceptores, nem com as vias opióide e da L-arginina/óxido nítrico. Na segunda fase do teste o efeito antinociceptivo do OECA deve-se a interações com as quatro vias testadas (via opióide, interações com os α 1- e α 2-adrenoceptores e a via L-arginina/óxido nítrico).

4- A atividade antiedematogênica do OECA nos modelos de edema de pata induzidos por dextrana e carragenina é resultado de sua ação modulatória sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina e histamina, somada à sua provável ação sobre a liberação de bradicinina e interação com a via das prostaglandinas. O OECA não apresentou atividade antiedematogênica no modelo de edema de pata induzido por glutamato provavelmente devido à sua pouca ou nenhuma interação com receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK₂.

5- A atividade antiedematogênica do alfa-pineno nos modelos de edema de pata induzidos por dextrana e carragenina é resultado de sua ação moduladora sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina, somada à sua provável ação sobre a liberação de histamina e bradicinina e uma possível interação com a via das prostaglandinas. O alfa-pineno apresentou atividade antiedematogênica no modelo de edema de pata induzido por glutamato provavelmente devido à sua interação com receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK₂.

6- O trans-cariofileno apresentou atividade antiedematogênica no modelo de edema de pata induzido por dextrana provavelmente devido à sua ação moduladora sobre a síntese, liberação e/ou ação de serotonina. Já seu efeito antiedematogênico no modelo de edema de pata induzido por glutamato deve-se, provavelmente, a sua interação com receptores ionotrópicos não-NMDA e receptores NK₂.

7- O efeito antinociceptivo e antiedematogênico do OECA deve-se a complexa interação sinérgica, antagônica e/ou de adição dos efeitos dos muitos constituintes presentes em sua composição.

4.0- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AANONSEN, S.L.; WILCOX, G.L. Excitatory amino acid receptors and nociceptive neurotransmission in rat spinal cord. **Pain**, v. 41, p. 309-321, 1990.

ABACIOGLU, N.; TUNÇTAN, B.; AKBUKUT, E.; KAKICI, I. Participation of the components of L-arginine/nitric oxide/cGMP cascade by chemically-induced abdominal constriction in the mouse. **Life Sciences**, v. 67, p. 1127-1137, 2000.

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2005.

ABBOTT, F.V.; MELZACK, R. Brainstem lesions dissociated neural mechanisms of morphine analgesia in different kinds of pain. **Brain Research**, v. 251, p. 149-155, 1982.

ABDON, A.P.V.; LEAL-CARDOSO, J.H.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; MORAIS, S.M.; SANTOS, C.F. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 1215-1219, 2002.

ABRAHIM, D.; FRANCISCHINI, A.C.; PERGO, E.M.; KELMER-BRACHT, A.M., ISHII-IWAMOTO, E.L. Effects of α -pinene on the mitochondrial respiration of maize seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 985-991, 2003.

ADEBIYI, R.A.; ELSA, A.T.; AGAIE, B.M.; ETUK, E.U. Antinociceptive and antidepressant like effects of *Securidaca longepedunculata* root extract in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 234-239, 2006.

ALBUQUERQUE, A.A.C.; SORENSON, A.L.; LEAL-CARDOSO, J.H. Effects of essential oil of *Croton zehntneri*, and of anethole and estragole on skeletal muscles. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 49, p. 41-49, 1995.

AL-HABOUBI, H.A.; ZEITLIN, I. J. Re-appraisal of the role of histamine in carrageenan-induced paw oedema. **European Journal of Pharmacology**, v. 88, p. 169-176, 1983.

ALMEIDA, T.F.; ROIZENBLATT, S.; TUFIK, S. Afferent pain pathways. **Brain Research**, v.1000, p.40-56, 2004.

AMANN, R.; SCHULIOGOI, R.; LANZ, I; DONNERER. Histamine-induced edema in the rat paw – effect of capsaicin denervation and a CGRP receptor antagonist. **European Journal of Pharmacology**, v. 279, p. 227-231, 1995

AMARAL, J.F. **Atividade antinociceptiva, antiinflamatória e gastropotetora do óleo essencial de *Croton sonderianus* Muell. Arg.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, 2004.

ANTONIJEVIC, I.; MOUSA, S.A.; SCHAFER, M.; STEIN, C. Perineural defect and peripheral opioid analgesia in inflammation. **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 165-172, 1995.

BANCHET, G.S.V.; PASTOR, A.; BISKUP, C., SCHLEGEL, C.; BENNDORF, K.; SCHAIBLE, H.G. Localization of functional calcitonin gene-related peptide binding sites in a subpopulation of cultured dorsal root ganglion neurons. **Neuroscience**, v. 110, p. 131–145, 2002.

BATATINHA, M.J.M.; SOUZA-SPINOSA, H.; BERNARDI, M.M. *Croton zehntneri*: possible central nervous system effects of the essential oil in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 45, p. 53-57, 1995.

BAXTER, J.H.; BEAVEN, M.A.; HORÁKOVÁ, Z. Effects of adrenergic agents, theophylline and other drugs on dextran edema and histamine release in rats. **Biochemical Pharmacology**, v. 23, p. 1211-1217, 1974.

BEIRITH, A., SANTOS, A.R.S., RODRIGUES, A.L.S., 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. **European Journal of Pharmacology**, v. 345, p. 233-245, 1998.

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

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S., CALIXTO, J.B. The role of neuropeptides and capsaicin-sensitive fibres in glutamate-induced nociception and paw oedema in mice. **Brain Research**, v. 969, p. 110–116, 2003.

BERNARDI, M.M.; SOUZA-SPINOSA, H.; BATATINHA, M.J.M.; GIORGI, R. *Croton zehntneri*: possible central nervous system effects in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 33, p. 285-287, 1991.

BERRINO, L.; OLIVA, P.; ROSSI, F.; PALAZZO,; NOBILI, B. Interaction between metabotropic and NMDA glutamate receptors in the periaqueductal grey pain modulatory system. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, v. 364, p. 437-443, 2001.

BEVILACQUA, M.P.; STENGALINS, S.; GIMBRONE, M.A.; SEED, B. Endothelium leukocyte adhesion molecule-1 an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins. **Science**, 243, p. 1160, 1989.

BEZERRA, M. A. C. **Alpinia speciosa Schum: estudo das frações fixas e do óleo essencial.** Fortaleza 1994. Tese (Mestrado em Farmacologia). Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza 1994.

BIE, B.; FIELDS, H.L.; WILLIAMS, J.T.; PAN, Z.Z. Roles of α 1- α 2-adrenoceptors in the nucleus raphe magnus in opioid analgesia and opioid abstinence-induced hyperalgsia. **The Journal of Neuroscience**, v.23, p. 7950-7957, 2003.

BIGHETTI, E.J.B.; HIRUMA-LIMA, C.A.; GRACIOSO, J.S.; SOUZA BRITO, A.R.M. Anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents of the essential oil of *Croton cajucara* Benth. **Journal of Pharmacy and Pharmacology** v. 51, p. 1447–1453, 1999.

BOUVIER, F.; RAHIER, A.; CAMARA, B. Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. **Progress in Lipid Research**, v. 44, p. 357–429, 2005.

BURNS, M. M. Alternative medicine: herbal preparations. **Clin Ped Emerg Med**, v. 1, p. 186-190, 2000.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223– 253, 2004.

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

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p.179-189, 2000.

CALVINO, B.; GRILO, R.M. Central pain control. **Joint Bone Spine**, v. 73, p. 10-16, 2006.

CAMPOS, A.R.; ALBUQUERQUE, F.A.A.; RAO, V.S.N.; MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C. Investigations on the antinociceptive activity of crude extracts from *Croton cajucara* leaves in mice. **Fitoterapia**, v. 73, p. 116-120, 2002.

CANUTO, K.M. **Efeito antinociceptivo e antiedematogênico do óleo essencial de *Croton argyrophylloides* Muell. Arg.**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Ceará, 2005.

CARLTON, S.M.; ZHOU, S.; COGGESHALL, R.E. Localization and activation of substance P receptors in unmyelinated axons of rat glabrous skin. **Brain Research**, v. 734, p. 103–108, 1996.

CARNEIRO-LOUREIRO, A.C. **Efeito antiedematogênico e antinociceptivo do óleo essencial de *Croton sonderianus* Muell. Arg.** Dissertação de Mestrado, Curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas, Universidade Estadual do Ceará; 2003.

CARSTENS, E.; LEAH, J.; LECHNER, J.; ZIMMERMANN, M. Demonstration of extensive brainstem projections to medial and lateral thalamus and hypothalamus in the rat. **Neuroscience**, v. 35, p. 609-626, 1990.

CESARE, P.; MCNAUGHTON, P. Peripheral pain mechanisms. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 7, p. 493-499, 1997.

CHABAL, C.; JACOBSON, L.; RUSSEL, L.C.; BURCHIE, K.J. Pain response to perineuronal injection of normal saline, epinephrine and lidocaine in humans. **Pain**, v. 49, p. 9-14, 1992.

CHANG, H.J.; KIM, H.J.; CHUN, H.S. Quantitative structure–activity relationship (QSAR) for neuroprotective activity of terpenoids. **Life Sciences**, v. 80, p. 835–841, 2007.

CHATTOPADHYAY, D.; ARUNACHALAM, G.; MANDAL, A.B.; SUR, T.K.; MANDAL, S.C.; BHATTACHARYA, S.K. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: *Mallotus peltatus* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, p. 229-237, 2002.

CHIZH, B. A. Novel approaches to targeting glutamate receptors for the treatment of chronic pain: Review article. **Amino Acids**, v. 23, p. 169–176, 2002.

CODERRE, T.J. The role of excitatory amino acids receptors and intracellular messenger in persistent nociception after tissue injury in rats. **Molecular Neurobiology**, v. 7, p. 229-232, 1993.

COELHO-DE-SOUZA, A. N.; CRIDDLE, D. N.; LEAL-CARDOSO, J. H. Selective modulatory effects of the essential oil of *Croton zehntneri* on isolated smooth muscle preparations of the guinea-pig. **Phytotherapy Research**, v. 12, p. 189 – 194, 1998.

COELHO-DE-SOUZA, A.N.; BARATA, E.L.; MAGALHÃES, P.J.C.; LIMA, C.C.; LEAL-CARDOSO, J.H. Effects of the essential oil of *Croton zenthneri*, and its constituent estragole on intestinal smooth muscle. **Phytotherapy Research**, v. 11, supl., p. 299-304, 1997.

COLE, H.W.; BROWN, C.E.; MAGEE, D.E.; MAGEE, C.; ROUDEBUSH, R.E.; BRYANT, H.U. Serotonin-induced paw edema in the rat: Pharmacological Profile. **General Pharmacology**, . 26, p. 431-436, 1994.

COSTELLO, A.H.; HARGREAVES, K.M. Suppression of carrageenan-induced hyperalgesia, hyperthermia and edema by a bradykinin antagonist. **European Journal of Pharmacology**, v. 171, p. 259-263, 1989.

COSTIGAN, M.; WOOLF, C.J. Pain: Molecular Mechanisms. **The Journal of Pain**, v. 1, p. 35-44, 2000.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Review**, v. 12, p. 564-582, 1999.

CRAGG, G.M.; NEWMAN, D.J.; SNADER, K.M. Natural Products in Drug Discovery and Development. **Journal of Natural Products**, v. 60, p. 52-60, 1997.

CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE, C.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W.; DANTAS, T.N.C. Fixed and volatile constituents of *Croton aff. Nepetaefolius*. **Journal of Natural Products**, v. 43, p. 756-757, 1980.

CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W.; MATOS, F.J.A.; ANDRADE, C.H.S.; MACHADO, M.I.L. Composição química de óleos essenciais de espécies nordestinas de *Croton*. **Ciência e Cultura**, v. 30, p. 326-327, 1978.

CRAVEIRO, A.A.; FERNANDES, A.G.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; ALENCAR, J.W. Óleos essenciais de canelas silvestres regionais. **Ciência e Cultura**, v. 29, p. 445, 1997.

CRAVEIRO, A.A.; SILVEIRA, E.R. Two cleistanthane type diterpenes from *Croton sonderianus*. **Phytochemistry**, v. 21, p. 2571-2574, 1982.

CRAVEIRO, A.A.; SILVEIRA, E.R.; FILHO, R.B.; MASCARENHAS, I.P. Sonderianin, a furanoid diterpene from *Croton sonderianu*. **Phytochemistry**, v. 20, p. 852-854, 1981.

CUI, M.; FENG, Y., MCADOO, D.J.; WILLIS, W.D. Periaqueductal gray stimulation-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats is associated with the release of norepinephrine, serotonin and amino acids. **Journal of Pharmacological Experimental Therapies**, v. 289, p. 868-876, 1999.

CUNHA, F.M.; FRODE, T.S.; MENDES, G.L.; MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Additional evidence for the anti-inflammatory and anti-allergic properties of the sesquiterpene polygodial. **Life Science**, v. 70, p. 159-169, 2001.

CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. Peripheral hyperalgesic cytokines. **Advances in Experimental Medical Biology**, v. 521, p. 22–39, 2003.

CUNHA, F.Q.; LORENZETTI, B.B.; POOLE, S.; FERREIRA, S.H. Interleukin- 8 as a mediator of sympathetic pain. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 104, p. 765–767, 1991.

CUNHA, F.Q.; POOLE, S.; LORENZETTI, B.B.; FERREIRA, S.H. The pivotal role of tumour necrosis factor alpha in the development of inflammatory hyperalgesia. **British Journal of Pharmacology**, v. 107, p. 660–664, 1992.

DALBÓ, S.; JURGENSEN, S.; HORST, H.; SOETHE, D.N.; SANTOS, A.R.S.; PIZZOLATTI, M.G.; RIBEIRO-DO-VALE, R.M. Analysis of the antinociceptive effect of the proanthocyanidin-rich fraction obtained from *Croton celtidifolius* barks: Evidence for a role of the dopaminergic system. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 85, p. 317–323, 2006.

DAVIS, K.D.; TREEDE, R.D.; RAJA, S.N.; MEYER, R.A.; CAMPBELL J.N. Topical application of clonidine relieves hyperalgesia in patients with sympathetically maintained pain. **Pain**, v.47, p. 309-315, 1991.

DEHAVEN-HUDKINS, D.L.; BURGOS, L.C.; CASSEL, J.A.; DAUBERT, J.D.; DEHAVEN, R.N.; MANSSON, E.; NAGASAKA, H.; YU, G.; YAKSH, T. Loperamide (ADL 2-1294) an opioid antihyperalgesic agent with peripheral selectivity. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 494, p. 494-502, 1999.

DERARDT, R.; JOUGNEY, S.; DELEVALCEE, F.; FALHOUT, M. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. **European Journal of Pharmacology**, v. 61, p. 17-24, 1980.

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

DICKENSON, A.H.; SULLIVIAN, A.F. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurones in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. **Pain**, v. 30, p. 349-360, 1987.

DOERSCHULCK, C.M.; MIZGERD, J.P.; KUBO, H.; QIN, L.; KUMASAKA, T. Adhesion molecules and cellular biomechanical changes in acute lung injury. **Chest**, v.116, p. 37-43, 1999.

DOUGHERTY, P.M.; PALECEK, J.; PALECKOVA, V.; SORKIN, L.S.; WILLIS, W.D. The role of NMDA and non-NMDA excitatory amino acid receptors in the excitation of primate spinothalamic tract neurons by mechanical, chemical, thermal, and electrical stimuli. **Journal of Neuroscience**, v. 12, p. 3025-3041, 1992.

DOURSOUT, M.F.; LIANG, Y; CHELLY, J.E. NOS inhibitors exhibit antinociceptive properties in the rat formalin test. **Regional anesthesia and pain**, v. 50, p. 909-916, 2003.

DRAY, A. A inflammatory mediators of pain. **British Journal of Anaesthesiology**, v. 75, p. 125-131, 1995.

DRAY, A.; PERKINS, M. Bradykinin and inflammatory pain, **Trends in Neuroscience**, v. 16, p. 99-110, 1993.

DRAY, A.; URBAN, L. & DICKENSON, A. Pharmacology of chronic pain. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.15, p. 190-197, 1994.

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.

DUDHGAONKAR, S.P.; KUMAR, D.; NAIK, A.; DEVI, A.R.; BAWAKULE, D.U.; TANDAN, S.K. Interaction of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 inhibitors in formalin-induced nociception in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 492, p. 117-122, 2004.

EDDY, N.B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics II. Dithienylbutenyl and dithienbutllamines. **Journal of pharmacological experimental therapies**, v. 107, p. 385-393, 1953.

ERDOS, E.G. Bradykinin, kallidin and kallikrein. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 25, p. 428-488, 1979.

ESMERALDINO, L.E.; SOUZA, A.M.; SAMPAIO, S.V. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. **Phytomedicine**, v. 12, p. 570–576, 2005.

FERNANDES, E.S.; PASSOS, G.F.;MEDEIROS, R.; CUNHA, F.M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M.M.; PIANOWSKI, L.F.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, p. 228-236, 2007.

FERREIRA, S.H.; LORENZETTI, B.B. Intrathecal administration of prostaglandin E2 causes sensitization of the primary afferent neuron via the spinal release of glutamate. **Inflammatory Research**, v. 45, p. 199-502, 1996.

FERREIRA, S.H.; LORENZETTI, B.B.; BRISTOW, A.F.; POOLE, S. Interleukin- 1 beta as a potent hyperalgesic agent antagonized by a tripeptide analogue. **Nature** v. 334, p. 698–700, 1988.

FLEETWOOD-WALKER, S.M.; MITCHELL, R.; HOPE, P.J.; MOLONY, V.; IGGO, A. An α -2 receptor mediates the selective inhibition by noradrenalina of nociceptive responses of identified dorsal horn neurons. **Brain Research**, v. 334, p. 243-254, 1985.

FORTES, J.C.; LOURENÇO, C.B.; GUEDES, M.I.F.; Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Croton argyrophylloides* Muell. Arg. **Anais da VIII Semana Universitária da UECE**, 2003.

FREITAS, M.S.M.; MARTINS, M.A., VIEIRA, J.C. Produção e qualidade de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em resposta à inoculação de fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 39, n.9, p. 887-894, 2004.

FUNK C.D. Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology. **Science**, v. 294, p. 1871-1875, 2001.

GAO, K.; KIM, Y-H. H.; MASON, P. Serotonergic ponto-medullary neurons are not activated by antinociceptive stimulation in the periaqueductal gray. **Journal of Neuroscience**, v. 17, p. 3285-3292, 1997.

GAO, W.C.; QIAO, J.T. Nitric oxide contributes to both spinal nociceptive transmission and its descending inhibition in rats: an immunocytochemical study. **Neuroscience Letters**, v. 240, p. 143–146, 1998.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; MANNELLI, L.D.C.; MAZZANTI, G.; BARTOLINI, A. Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. **IL Farmaco**, v. 56, p. 387-389, 2001.

GIORDANO, J.; GERSTMANN, H. Patterns of serotonin- and 2- methylserotonin-induced pain may reflect 5-HT₃ receptor sensitization. **European Journal of Pharmacology**, v. 483, p. 267–269, 2004.

GO, V.L.W.; YAKSH, T.L. Release of substance P from the cat spinal cord. **Journal of Physiology**, v. 391, p. 141-167, 1987.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L.; LEACH, D.N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 14, p. 322–332, 1999.

GRODNITZKY, J.A.; COATS, J.R. QSAR evaluation of monoterpenoids' insecticidal activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4576–4580, 2002.

GROOT, J.; ZHOU, S.; CARLTON, S.M. Peripheral glutamate release in the hindpaw following low and high intensity sciatic stimulation. **NeuroReport**, v. 11, p.497-502, 2000.

GUO, Y.; MOCHIZUKI, T.; MORII, E.; KAZUTAKA, Y.; KITAMURA, M. Role of mast cell histamine in the formation of rat paw edema: A microdialysis study. **European Journal of Pharmacology**, v. 331, p. 237–243, 1997.

GUYTON, A. C. & HALL, J. H. **Textbook of Medical Physiology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1996.

HALLEY, J.E.; SULLIVAN, A.F.; DICKENSON, A.H. Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. **Brain Research**, v. 512, p. 218-226, 1992.

HAMALAINEN, M.; PERTOVAARA, A. The Antinociceptive Action of an α_2 -Adrenoceptor Agonist in the Spinal Dorsal Horn Is Due to a Direct Spinal Action and Not to Activation of Descending Inhibition. **Brain Research Bulletin**, v. 37, p. 581-587, 1995.

HAN, Y. Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on Candida albicans-caused arthritic inflammation. **International Immunopharmacology**, v. 5, p. 1049–1056, 2005.

HASSAN, A.;H.; ABLEITNER, A.; STEIN, C.; HERTZ, A. Inflammation of the rat paw enhances axonal transport of opioid receptors in the sciatic nerve and increases their density in the inflamed issue. **Neuroscience**, v. 55, p. 185-195, 1993.

HAWS, C.M.; HEINRICHER, M.M.; FIELDS, H.I. Alpha-adrenergic receptor agonists, but not antagonists, alter the tail-flick latency when microinjected into the rostral ventromedial medulla of the lightly anesthetized rat. **Brain Research**, v. 533, p. 192-195, 1990.

HEAPY, C.G.; JAMIESON, A.; RUSSELL, N.J.W. Afferent C-fiber and A-delta activity in models of inflammation. **British Journal of Pharmacology**, v. 90, p. 164, 1987.

HERNÁNDEZ-DELGADILLO, G.P.; CRUZ, S.L. Endogenous opioids are involved in morphine and dipyron analgesic potentiation in the tail flick test in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 546, p. 54-59, 2006.

HOHEISEL, U.; UNGERB, T.; MENSEA, S. The possible role of the NO-cGMP pathway in nociception: Different spinal and supraspinal action of enzyme blockers on rat dorsal horn neurons. **Pain**, v. 117, p. 358-367, 2005.

HOLTHUSEN, H.; ARNDT, J.O. Nitric oxide evokes pain in humans on intracutaneous injection. **Neuroscience Letters**, v. 165, p. 71-74, 1994.

HONG, Y.; ABBOTT, F.V. Contribution of peripheral α 1A-adrenoceptors to pain induced by formalin or by α -methyl-5-hydroxytryptamine plus noradrenaline. **European Journal of Pharmacology**, v. 301, p. 41-48, 1996.

HOUGH, L.B. Cellular localization and possible functions for brain histamine: recent progress. **Progress in Neurobiology**, v. 30, p. 469-505, 1988.

HOUGH, L.B.; NALWALK, J.W.; LEURS, R.; MENGE, W.M.; TIMMERMAN, H. Antinociceptive activity of impentamine, a histamine congener, after CNS administration. **Life Sciences**, v. 64, p. 79-86, 1999.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesia. **Journal Neuroscience Methodies** v. 14, p.69-76, 1985.

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

- HUNT, S.P.; MANTYH, P.W. The molecular dynamics of pain control. **Nature Reviews**, v. 2, p.83-91, 2001
- IGNARRO, L. J. Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. **Biochemical Pharmacology**, v. 41, p. 485–490. 1991.
- IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H. OH-ISHI, S. Evidence for bradykinin mediation of carrageenin-induced inflammatory pain: a study using kininogen-deficient Brown Norway Katholiek rats. **Biochemical Pharmacology**, v. 61, p. 911-914, 2001.
- JANG, J.H.; NAM, T.S.; PAIK K.S.; LEEM, J.W. Involvement of peripherally released substance P and calcitonin generelated peptide in mediating mechanical hyperalgesia in a traumatic neuropathy model of the rat. **Neuroscience Letters**, v. 360, p. 129–132, 2004.
- JULIUS, D.; BASBAUMI, A. I. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*, v. 413, p. 203-210, 2001.
- KARTAL, M. Intellectual property protection in the natural product drug discovery, traditional herbal medicine and herbal medicinal products. **Phytotherapeutic Research**, v. 21, p. 113-119, 2007.
- KATZ, L.B. THEOBALD, H.D.; BOOKSTAFF, R.C. Characterization of the enhanced paw edema response to carrageenan and dextran in 2, 3, 7, 8 –tetrachlorodibenzeno-p-dioxin treated rats. **Journal of Pharmacological Experimental Therapies**, v. 230, p. 670-677, 1984.
- KHASAR, S.G.; GREEN, P.G.; CHOU, B.; LEVINE, J.D. Peripheral nociceptive effects of α 2-adrenergic receptor agonists in the rat. **Neuroscience**, v. 66, p. 427-431, 1995.
- KO, M.C.H.; TUCHMAN, J.E.; JOHSON, M.D.; WIESENAUER, K.; WOODS, J.H. Local administration of mu or kappa opioid agonists attenuates capsaicin-induced thermal hyperalgesia via peripheral opioid receptors in rtas. **Psychopharmacology**, v. 148, p. 180-185, 2000.
- KOSTER, R., ANDERSON, M., DEBEER, E. J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.**, v. 18, p. 412, 1959.

KRUMENACKER, J.S.; HANAFY, K.A.; MURAD, F. Regulation of nitric oxide and soluble guanylyl cyclase. **Brain Research Bulletins**, v. 62, p. 505–515, 2004.

KULINSKY, V.I. Biochemical aspects of inflammation. **Biochemistry**, v. 72, p. 595-607, 2007.

LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J.H.; MAGALHÃES, P.J.C. Essential Oil of *Croton nepetaefolius* Decreases Blood Pressure through an Action upon Vascular Smooth Muscle: Studies in DOCA-Salt Hypertensive Rats. **Planta Médica**, v. 66, p. 138-143, 2000.

LAMAS, S.; MARSDEN, P.A.; LI, G.K.; TEMPST, P.; MICHEL, T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. **Proceedings of National Academic Science**, v. 89, p. 6348–6352, 1992.

LEAL-CARDOSO, J.H.; FONTELES, M.C. Pharmacological effects of essential oils of plants of the northeast of Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 71, p. 207-213, 1999.

LE BARS, D.; DICKENSON, A. H.; BESSON, J. M. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurons in the rat. **Pain**, v. 6, p. 283-304, 1979.

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

LEME, J.G.; HAMAMURA, L.; LEITE, M.P.; SILVA, M.R. Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carragenin and by heating. **British Journal of Pharmacology**, v. 48, p. 88-96, 1973.

LEVINE, J.D.; TAIWO, Y.O.; COLLINS, S.D.; TAM, K.J. Noradrenaline hyperalgesia is mediated through interaction with sympathetic postganglionic neurone terminals rather than activation of primary afferent nociceptors. **Nature**, v. 323, p. 158-161, 1986.

LIMA-ACCIOLY, P.M.; LAVOR-PORTO, P.R.; CAVALCANTE, F.S.; MAGALHÃES, P.J.C.; LAHLOU, S.; MORAIS, S.M.; LEAL-CARDOSO, J.H. Essential oil of *Croton nepetaefolius* and its main Constituent, 1,8-cineole, block excitability of rat Sciatic nerve *in vitro*. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, p. 1158–1163, 2006.

LIN, Q.; PENG, Y. B.; WILLIS, W. D. Role of GABA receptor subtypes in inhibition of primate spinothalamic tract neurons: difference between spinal and periaqueductal gray inhibition. **Journal of Neurophysiology**, v. 75, p. 109-123, 1996.

LINARDI, A.; COSTA, S.K.P.; DA SILVA, G.R.; ANTUNES, E. Involvement of kinins, mast cells and sensory neurons in the plasma exudation and paw oedema induced by staphylococcal enterotoxin-B in the mouse. **European Journal of Pharmacology**, v. 399, p. 235–242, 2002.

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

LOPPES, M.I.L.; SAFFIA, J.; ECHEVERRIGARAYA, S.; HENRIQUE, J.A.P.; SALVADORA, M. Mutagenic and antioxidant activities of *Croton lechleri* sap in biological systems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 437–445, 2004.

LUZ, A.I.R., ZOGHBI, M.G.B., RAMOS, L.S., MAIA, J.G.S., SILVA, M.L. Essential oil of Some Amazonian Zingiberaceae, 3 Genera *Alpinia* e *Rengalmia*. **Journal of Natural Products**, v. 47, n.5, p. 907-908, 1984.

LYONS, C.R. The role of nitric oxide in inflammation. **Advances in Immunology**, v. 60, p. 323-371, 1995.

MAGALHÃES, P. J. C., CRIDLE, D.N.; RAQUEL, A.T.; MELO, E.M.; MOTA, T.L. & LEAL-CARDOSO, J.H. Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyl-eugenol and thepineol. **Phytotherapy Research**, v. 12, supl., p. 172-177, 1998.

MAGALHÃES, P.J.C.; LAHLOU, S.; SANTOS, M.A.V.; PRADINES, T.L.; LEAL-CARDOSO, J.H. Myorelaxant Effects of the Essential Oil of *Croton nepetaefolius* on the Contractile Activity of the Guinea-Pig Tracheal Smooth Muscle. **Planta Médica**, v. 69, p. 874-877, 2003.

MAGALHÃES, P.J.C; LAHLOU, S.; LEAL-CARDOSO, J.H. Antispasmodic effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on guinea-pig ileum: a myogenic activity. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 18, p. 539, 2004.

MALEKI, N.; NAYEBI, A.M.; GARJANI, A. Effects of central and peripheral depletion of serotonergic system on carrageenan-induced paw oedema. **International Immunopharmacology**, v. 5, p. 1723-1730, 2005.

MALMBERG, A.B.; YAKSH, T.L. Pharmacology of the spinal action of ketorolac, morphine, ST-91, U50488H and L-PIA on the formalin test and isobolographic analysis of the NSAID interaction. **Anesthesiology**, v. 79, p. 270-281, 1993.

MANSIKKA, H.; ZHOU, L.; DONOVAN, D.M.; PERTOVAARA, A.; RAJA, N.S. The role of μ -opioid receptors in inflammatory Hyperalgesia and α 2-adrenoceptor-mediated Antihyperalgesia. **Neuroscience**, v. 113, p. 339-349, 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, Editora da universidade/UFV, 1995.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais**. 2 ed. Imprensa Universitária-UFC, 2000.

MATOS, M. J. A.; FERNANDES, A. Relatórios de excursões do programa estudo químico de óleos essenciais de plantas nativas e cultivadas no nordeste. **Convênio BNB- CNPq-UFC**, 1975-1978. Mimeografados.

MATOS, F.J.A. **Plantas da medicina popular do Nordeste: propriedades atribuídas e confirmadas**. Imprensa Universitária-UFC, Fortaleza, 1999.

MCCALL, W.D.; TANNER, K.D.; LEVINE, J.D. Formalin induces biphasic activity in C-fibers in the rat. **Neuroscience Letters**, v. 208, p. 45-48, 1996.

MCCHESENEY, J.D.; CLARK, A.M. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*, 1. Hardwickic and 3,4-secotrachylobanoic acids. **Journal of Natural Products**, v. 54, p. 1625-1633, 1991.

MELLER, S.T.; GEBHART, F.G. Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. **Pain**, v. 52, p. 127-136, 1993.

MELLER, S.T.; PECHMAN, P.S.; GEBHART, G.F.; MAVES, T.J. Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. **Neuroscience**, v. 50, p. 7-10, 1992.

MELZACK, R; WALL, P.D. Pain mechanisms: a new theory. **Science**, v. 150; p. 971-979, 1965.

MENDONÇA, V. L. M.; OLIVEIRA, C. L. A.; CRAVEIRO, A. A.; RAO, V. S.; FONTENES, M. C. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. **Memorium Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 93-97, 1991.

MENEZES, A.M.S.; ALMEIDA, F.R.C.; RAO, V.S.; MATOS, M.E.O. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Vanillosperma arborea*. **Fitoterapia LXI**, v. 3, supl., p. 252-254, 1990.

MENSE, S. Basic neurobiology mechanisms of pain and analgesia. **American Journal of Medicine**, v. 75, p. 4-14, 1983.

MIGUEL, T.T.; NUNES-DE-SOUZA, R.L. Defensive-like behaviors and antinociception induced by NMDA injection into the periaqueductal gray of mice depend on nitric oxide synthesis. **Brain research**, v. 1076, p. 42-48, 2006.

MILLAN, M. J. Serotonin (5-HT) and pain: a reappraisal of its role in the light of receptor multiplicity. **Seminary in Neuroscience**, v. 7, p. 409-419, 1995.

MILLAN, M.J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v. 66, p. 355-474, 2002.

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

MITCHELL, J.A.; KOHLHAAS, K.L.; SORETINO, R.; WARNER, T.D.; MURAD, F.; VANE, J.R. Induction by endotoxin of nitric oxide synthase in the rat mesentery artery: lack of effect on action of vasoconstrictors. **British Journal of pharmacology**, v. 109, p. 265-270, 1993.

MOBARAKEH, J.I.; TAKAHASHI, K.; SAKURADA, S.; KURAMASU, A.; YANAI, K. Enhanced antinociceptive effects of morphine in histamine H2 receptor gene knockout mice. **Neuropharmacology**, v. 51, 612-622, 2006.

MOORE, P.K.; WALLACE, P. GAFFEN, Z.; HART, S.L.; BABBEDGE, R.C. Characterization of the novel nitric oxide synthase inhibitor 7-nitroindazole and related indazole: anti-nociceptive and cardiovascular effects. **British Journal of Pharmacology**, v. 110, p. 219-224, 1993.

MORAIS, S.M.; CATUNDA-JÚNIOR F.E.A.; SILVA, A.R.A.; STONE, J.; NETO, M. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, p. 907-910, 2006.

MORRIS, C.J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse. **Methods in Molecular Biology**, v. 225, p. 115-121, 2003

MURAKAMI, A.; TANAKA, T.; LEE, J.-Y.; SURH, Y.-J.; KIM, H.W.; KAWABATA, K.; NAKAMURA, Y.; JIWAJINDA, S.; OHIGASHI, H. Zerumbone, a sesquiterpene in subtropical ginger, suppresses skin tumor initiation and promotion stages in ICR mice. **International Journal of Cancer**, v. 110, p. 481-490, 2004.

NAKAMURA-CRAIG, M.; GILL, B.K. Effect of neurokinin A, substance P and calcitonin gene related peptide in peripheral hyperalgesia in the rat paw. **Neuroscience Letters**, v. 124, p. 49-51, 1991.

NARDI, G.M.; DALBÓ, S.; MONACHED, F.D.; PIZZOLATTI, M.G.; RIBEIRO-DO-VALE, R.M. Antinociceptive effect of *Croton celtidifolius* Baill (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 73-78, 2006.

NISHIDA, S.; KAGAWA, K.; TOMIZAWA, S. Correlation between histamine content in exudate and degree of edema produced by dextran **Biochemical Pharmacology**, v. 27, p. 2641-2646, 1978.

NUSSLER, A.K.; BILLIAR, T.R. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 2, p. 171-178, 1993.

OBARA, I.; MAKUCH, W.; SPETEA, M.; SCHUTZ, J.; SCHMIDHAMMER, H.; PRZEWLOCKI, R.; PRZEWLOCKA, B. Local peripheral antinociceptive effects of 14-O-methylloxymorphone derivatives in inflammatory and neuropathic pain in the rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 558, p. 60-67, 2007.

OKPO, S.O.; FATOKUN, F.; ADEYEMI, O.O. Analgesic and anti-inflammatory activity of *Crinum glaucum* aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 78, p. 207–211, 2001.

OKUSE, K. Pain signalling pathways: From cytokines to ion channels. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 490–496, 2007.

OLIVEIRA, A.C.; LEAL-CARDOSO, J.H.; SANTOS, C.F.; MORAIS, S.M.; COELHO-DE-SOUZA, A.N. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p. 1471-1474, 2001.

OMOGUI, S. The biochemical origin of pain – Proposing a new law of pain: The origin of all pain is inflammation and the inflammatory response. Part 1 of 3 – A unifying law of pain. **Medical Hypotheses**, v. 69, p. 70–82, 2007.

OMOTE, K.; HAZAMA, K.; KAWAMATA, T.; KAWAMATA, M.; NAKAYAMA, Y.; HAZAMA, K.; NAMIKA, A. Activation of Peripheral NMDA-Nitric Oxide Cascade in Formalin Test. *Anesthesiology*, v. 93, p.173-178, 2000.

OMOTE, K.; HAZAMA, K.; KAWAMATA, T.; KAWAMATA, M.; NAKAYAMA, Y.; TORIYABE, M.; NAMIKA, A. Peripheral nitric oxide in carrageenan-induced inflammation. **Brain Research**, v. 912, p. 171-175, 2001.

OMOTE, K.; KAWAMATA, T; KAWAMATA, M; NAKAYAMA, Y.; NAMIKA, A. Formalin-induced nociception activates a monoaminergic descending inhibitory system. **Brain Research**, v. 814, p. 194-198, 1998.

ONOE, Y.; MIYAURA, C.; KAMINAKAYASHIKI, T.; NAGAI, Y.; NOGUCHI, K.; CHEN, Q.R. IL-13 and IL-4 inhibit bone resorption by suppressing cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin synthesis in osteoblasts. **Journal of Immunology**, v. 156, p. 758–764, 1996.

OSSIPOV, M.H.; GEBHART, G.F. Opioid, cholinergic and α -adrenergic influences on the modulation of nociception from the lateral reticular nucleus of the rat. **Brain Research**, v. 384, p. 282-293, 1986.

PAIVA, L.F.A., RAO, V.S., GRAMOSA, N.V.; SILVEIRA, E.R. Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin on experimental gastric ulcer in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, supl., p. 73-78, 1998.

PALMER, R.M.J.; ASTHON, D.S.; MONCADA, S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. **Nature**, v. 333, p. 664-666, 1988.

PAN, Z.Z.; FIELDS, H.L. Endogenous opioid-mediated inhibition of putative pain-modulating neurons in rat rostral ventromedial medulla. **Neuroscience**, v. 74, p. 855–862, 1996.

PASSOS, G.F.; FERNANDES, E.S.; CUNHA, F.M.; FERREIRA, J.; PIANOWSKI, L.F.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenácea*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. , p. , 2006.

PAULA, L.; SANTOS,W.F.; MALHEIRO, A.; CARLOS, D.; FACCIOLI, L.H. Differential modulation of celle recruitment and acute edema in a modelo of *Polybia paulista* venom-induced inflammation. **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 182–189, 2006.

PAZO, J.H. Fsiologia da Dor. **Fisiologia Humana**. Organizado por Cingonali, H. E. 7 ed Artmed editora, 2004.

PENG, Y.B.; LIN, Q.; WILLIS, W.D. Involvement of alpha-2-adrenoceptors in the periaqueductal gray-induced inhibition of dorsal horn cell activity in rats. **Journal of Pharmacological Experimental Therapies**, v. 278, p. 125-135, 1996.

PERIANAYAGAM, J.B.; SHARMA, S.K.; PILLAI, K.K. Ethnopharmacological communication Anti-inflammatory activity of *Trichodesma indicum* root extract in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v.104, p. 410–414, 2006.

PERROT, S.; GUILBAURD, G.; KAYSER, V. Effects of intraplantar morphine on paw edema and pain-related behaviour in rat model of repeated acute inflammation. **Pain**, v. 249, p. 249-257, 1999.

PESQUERO, J.B.; ARAUJO, R.C.; HEPPESTALL, P.A.; STUCKY, C.L.; SILVA, J.A.; WALTHER, T. Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B1 receptors. **Proceedings of National Academy of Science**, v. 97, p. 8140–8145, 2000.

PETROVAARA, A. Antinociception induced by α -2-adrenoceptor agonists with special emphasis on metomidine studies. **Progress in Neurobiology**, v. 40, p. 691-670, 1993.

PETTIBONE, D.J.; MULLER, G.P. Alpha adrenergic stimulation by clonidine increases plasma concentration of immunoreactive beta-endorphin in rats. **Endocrinology**, v. 109, p. 789-802, 1989.

POOLE, S.; CUNHA, F.Q.; SELKIRK, S.; LORENZETTI, B.B.; FERREIRA, S.H. Cytokine-mediated inflammatory hyperalgesia limited by interleukin-10. **Brazilian Journal of Pharmacology**, v. 115, p. 684–688, 1995.

PRUDENT, D., PERINEAU, F., BESSIERE, J.M., MICHE, G., BRAVO, R. Chemical analysis, bacteriostatic and fungistatic properties of the essential oil of the atoumau from martinique (*Alpinia speciosa* K. Schum). **Journal of Essential Oil Researches**, v. 5, p. 255-264, 1993.

PRZESMYCKI, K.; DZIECIUCH, J.A.; CZUCZWAR, S.J.; KLEINROK, Z. Nitric oxide modulates spinal antinociceptive effect of clonidine but not that of baclofen in the formalin test in rats. **European Neuro psychopharmacology**, v. 9, p. 115-121, 1999.

PRZESMYCKI, K.; HASSAN, A.H.S.; LASON.; W.; EPPLEN, C.; HERZ, A.; STEIN, C. Gene expression and localization of opioid peptides in immune cells of inflamed tissue: Functional role in antinociception. **Neuroscience**, v. 48, p. 491-500, 1992.

PRZEWOCKI, R.; PRZEWOCKA, B. Opioids in chronic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 429, p. 79-91, 2001.

RAMOS, S. J.; FERNANDES, L. A.; MARQUES, C. C. L.; SILVA, D. D.; PALMEIRA, C. M.; MARTINS, E. R. Produção de matéria seca e óleo essencial de menta sob diferentes doses de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8; n.1, p. 9-12, 2005.

RANG, H. P.; DALE, M. M. & RITTER, J. M. **Farmacologia**. Tradução de Patricia Josephine Voeux. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 2001.

ROCHA E SILVA, M. A brief survey of the history of inflammation. **Agent Actions**, v. 8 p. 45-49, 1978.

ROCHA, N.P.; FERREIRA, S.H. Restoration by levamisole of endotoxin-inhibited neutrophil migration, oedema and increased vascular permeability induced by carrageenin. **European Journal of Pharmacology**, v. 122, p. 87-92, 1986.

RUPNIAK, N.M.J.; BOYCE, S.; WEBB, J.K.; WILLIAMS, A.R.; CARLSON, E.J.; HILL, R.G. Effects of the bradykinin B1 receptor antagonist des-Arg9-[Leu8]-bradykinin and genetic disruption of the B2 receptor on nociception in rats and mice. **Pain**, v. 71, p. 89-97. 1997.

SABULAL, B.; DAN, M.; JOHN, A.J.; KURUP, R.; PRADEEP, N.S.; VALSAMMA, R.K.; GEORGE, V. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmonii* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2469-2473, 2006.

SAITO, H.; LAI, J.; ROGERS, C.M.; DOERSCHUCK, C.M. Mechanical properties of rat bone marrow and circulating neutrophils and their response to inflammatory mediators. **Blood**, v. 99, p. 2207-2213, 2002.

SALVEMINI, D.; MISKO, T.P.; MASFERRER, J.L.; SEIBERT, K.; CURRIE, M.G.; NEEDLEMAN, P. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, p. 7240-7244, 1993.

SAMAD, T.A.; MOORE, K.A.; SAPIRSTEIN, A.; BILLET, S.; ALLCHORNE, A.; POOLE, S. Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. **Nature**, v. 410, p. 471-475, 2001.

SANTOS, F.A.; JEFERSON, F.A.; SANTOS, C.C.; SILVEIRA, E.R.; RAO, V.S.N. Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. **Life Sciences**, v. 77, p. 2953-2963, 2005.

SEMOS, M.L.; HEADLEY, P.M. The role of nitric oxide in spinal nociceptive reflexes in rats with neurogenic and non-neurogenic peripheral inflammation. **Neuropharmacology**, v. 33, p. 1487-1497, 1994.

SERAFEIN, A.; GORDON, J. The immune system gets nervous. **Current opinion in Pharmacology**, v. 1, p. 398-403, 2001.

SHIBATA, M.; OHNKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristics biphasic pain response. **Pain**, v. 38, p. 347-352, 1989.

SHU, Y. Z Recent Natural Products Based Drug Development: A Pharmaceutical Industry Perspective. **Natural Products**, v. 61, p. 1053-1071, 1998.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre, Ed. Da Universidade UFRGS, 1999.

SIQUEIRA, R.J.B.; LEAL-CARDOSO, J.H.; COUTURE, R.; LAHLOU, S. Role of Capsaicin-Sensitive Sensory Nerves in Mediation of the Cardiovascular Effects of the Essential Oil of *Croton zehntneri* Leaves in Anaesthetized Rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, p. 238-247, 2006.

SMITH, C.W.; KISHIMOTO, T.K.; ABBASS, O.; HUGHES, B.; ROTHELEIN, R.; MCINTERE, L.V.; BUTCHER, E.; ANDERSON, D.C. Chemotactic factors regulated lectin adhesion molecule 1 (LECAM-1) dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated endothelial cells in vitro. **Journal of Clinical Investigation**, v. 87, p. 609, 1991.

SMITH, C.W.; ROTHELEIN, R.; HUGHES, B.; MARISCALCO, M.M.; SCHMALSTIEGE, F.C.; ANDERSON, D.C. Recognition of endothelium determinant for CD 18-dependent neutrophil adherence and transendothelial migration. **Journal of Clinical Investigation**, v. 82, p. 1746, 1988.

SOUSA, A.M.; PRADO, W.A. The dual effect of a nitric oxide donor in nociception. **Brain Research**, v. 897, p. 9–19, 2001.

STANDEN, M.D.; CONNELLAN, P.A.; LEACH, D.N. Natural killer cell activity and lymphocyte activation: Investigating the effects of a selection of essential oils and components in vitro. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 16, p. 133–139, 2006.

STEIN, C. The control of pain in the peripheral tissue by opioids. **New England Journal of Medicine**, v. 332, p. 1685-1690, 1995.

STEIN, C.; MILLAN, M.J.; SHIPPENBERG, T.S.; PETER, K.; HERZ, A. Peripheral opioid receptors mediating antinociception in inflammation: Evidences for involvement of μ , δ , κ receptors. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 248, p. 1269-1275, 1989.

STULZER, H.K.; TAGLIARI, M.P.; ZAMPIROLO, J.A.; CECHINEL-FILHO, V.; SCHLEMPER, V. Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from *Marrubium vulgare*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, p. 379–384, 2006.

SUÁREZ, A.I.; COMPAGNONE, R.S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M.M.; TILLET, S.; MONACHEC, F.D.; GIULIO, C.; BRUGES, G. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* bark aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 11–14, 2003.

TABER, R.I., LATRANYI, M.B. Antagonism of the analgesic effect of opioid and non-opioid agents by p-chlorophenylalanine (PCPA). **European Journal of Pharmacology**, **75**: 215-222, 1981.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. Massachusetts, Sinauer Associates, 2002.

TAKAHASHI, R.N.; PAZ, M.M. Influence of naloxone on analgetic effects of antidepressants in mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, p. 607-610, 1987.

TAMBE, Y.; TSUJIUCHI, H.; HONDA, G.; IKESHIRO, Y.; TANAKA, S. Gastric cytoprotection of the non-steroidal anti-inflammatory sesquiterpene, beta-caryophyllene. **Planta Médica**, v. 5, p. 469-470, 1996.

TASKER, R.A.R.; CONNELL, B.J.; YOLE, M.J. Systemic injections of alpha-1 adrenergic agonists produce antinociception in the formalin test. **Pain**, v.49, p. 383-389, 1992.

TIFFANY, C.W.; BURCH, R.M. Bradykinin stimulates tumor necrosis factor and interleukin-1 release from macrophages. **FEBS Letters**, v. 247, p. 189-192, 1989.

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

TRAUB, R. J. The spinal contribution of the induction of central sensitization. **Brain Research**, v. 84 p. 8707-8711, 1997.

TSAO, R.; COATS, J.R. Starting from nature to make better insecticides. **Chemtech**, v. 25, p. 23-28, 1995.

UENO, A.; NARABA, H.; OHISHI, S. Mouse paw edema induced by a novel bradykinin agonist and its inhibition by B2-antagonists. **JPN Journal of Pharmacology**, v. 78, p. 109-111, 1998.

VALE, M.L.; MARQUES, J.B.; MOREIRA, C.A.; ROCHA, F.A.; FERREIRA, S.H.; POOLE, S. Antinociceptive effects of interleukin-4, -10, and -13 on the writhing response in mice and

zymosan-induced knee joint incapacitation in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 304, p. 102–108, 2003.

VAN WAUVE, J.P.; GOOSENS, J.G. Arabinolactan and dextran induced ear inflammation in mice: differential inhibitions by H1-antihistamines, 5-HT-serotonin antagonists and lipoxygenase blockers. **Agent Action**, v. 28, p. 78-82, 1989.

VANEGAS, H.; SCHAIBLE, H.G. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. **Progress in Neurobiology**, v. 64, p. 327–363, 2001.

VAZ, Z.R., CECHINEL FILHO, V., YUNES, R.A., CALIXTO, J.B. Antinociceptive action of 2-(4-Bromobenzoyl)-3-Methyl-4,6-Dimethoxy Benzofuran, a novel Xanthoxyline derivative on chemical and thermal models of nociception in mice. **Journal of pharmacological experimental therapies**, v. 278, p. 304-312, 1996.

VERRI, W.A.; CUNHA, T.M.; PARADA, C.A.; POOLE, S.; CUNHA, F.Q.; FERREIRA, S.H. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, p. 116-138, 2006.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Óleo essencial de Eucalipto. **Documentos florestais número 17**, p. 1-26, 2003.

WALL, P.D. The gate control theory of pain mechanisms: a re-examination and re-statement. **Brain**, v.101, p. 1-18, 1978.

WEBSTER, G.L. A Provisional Synopsis of the Sections of the Genus *Croton* (Euphorbiaceae). **Taxon**, v. 42, p. 793-823, 1993.

WEBSTER, G.L. Classification of the Euphorbiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 81, p. 3-32, 1994.

WEBSTER, G.L. Conspectus of a New Classification of the Euphorbiaceae. **Taxon**, v. 24, p. 593-601, 1975.

WHITTLE, B.A. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **International Journal of Neuropharmacology**, v. 3, p. 369-378, 1964.

WIERTELAK, E. P.; SMITH, K. P.; FURNESS, L.; MOONEY-HEIBERGER, K.; MAYR, T.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. Acute and conditioned hyperalgesic responses to illness. **Pain**, v. 56, p. 227-234, 1994.

WILLIS, W. D.; GERHART, K. D.; WILLCOCKSON, W. S.; YEZIERSKI, R. P.; WILCOX, T. K.; CARGILL, C. L. Primate raphe- and reticulospinal neurons: effects of stimulation in periaqueductal gray or VPL_c nucleus. **Journal of Neurophysiology**, v. 51, p. 467-480, 1984.

WILLIS, W. D.; WESTLUND, K. N. Neuroanatomy of the pain system that modulate pain. **Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 14, p. 2-31, 1997.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, p. 3-19, 2003.

WOOLF, C.J. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. **Nature**, v. 306, p. 686-688, 1983.

YAKSH, T. Substance P release from knee joint afferent terminals: modulation by opioids. **Brain Research**, v. 458, p. 19-24, 1988.

YEH, S.Y. Potentiation of pentazocine antinociception by tripelamine in the rat. **Journal of Pharmacological Experimental Therapies**, v. 235, p. 683-688, 1986.

YUM, M.E.M.; FREITAS, M.C.; BARROS, A.S.; SANTOS, C.F.; COELHO-DE-SOUZA, A.N.; OLIVEIRA, A.C. Efeito do óleo essencial de *Croton sonderianus* sobre o trânsito intestinal normal em camundongos. **Anais da VIII Semana Universitária da UECE**, 2003.

ZEILHOFER, H.U. Prostanoids in nociception and pain. **Biochemical Pharmacology**, v. 73, p. 165-174, 2007.

ZIMMERMANN, M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. **Pain**, v. 16, p. 109-110, 1983.

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](#)