



UNIVALI

UNIVERSIDADE DO VALE DO ITAJAÍ

Rosana Custódio da Luz Castellain

**Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do
extrato bruto, frações e uma substância pura obtidos das folhas de
Litchi chinenses soon**

Itajaí - 2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

FICHA CATALOGRÁFICA

C276a Castellain, Rosana Custódio da Luz.
Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato bruto, frações e uma substância pura obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon [manuscrito] / Rosana Custódio da Luz Castellain. – Itajaí, 2010.
121 f. : il. (fig. tab.).

Inclui lista de abreviaturas.
Referências: p. 106-121.
Cópia de computador (Printout(s)).
Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Itajaí, Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração em Produtos Naturais e Substâncias Sintéticas Bioativas, 2010.
“Orientadora: Prof^a Dr^a. Márcia Maria de Souza”, “Co-orientador: Prof^o Dr^o. Valdir Cechinel Filho”.

1. Farmacognosia. 2. Farmácia - Pesquisa. 3. Plantas medicinais. 4. Inflamação. I. Souza, Márcia Maria de. II. Cechinel Filho, Valdir. III. Título

CDU: 615.32

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

Rosana Custódio da Luz Castellain

**Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do
extrato bruto, frações e uma substância pura obtidos das folhas de**
Litchi chinenses soon

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

Orientadora: Prof^a Dr^a. Márcia Maria de Souza
Co-orientador: Prof^o Dr^o. Valdir Cechinel Filho

Itajaí, fevereiro de 2010

Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato bruto, frações e uma substância pura obtidos das folhas de *Litchi chinenses soon*

Rosana Custódio da Luz Castellain

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

Professora Tânia Mari Bellé Bresolin, Doutora
Coordenadora do Programa Mestrado em Ciências Farmacêuticas

Apresentado perante a Banca Examinadora composta pelos Professores:

Doutora Márcia Maria de Souza (UNIVALI) – Presidente/Orientador

Doutor Valdir Cechinel Filho (UNIVALI) - Co-orientador

Doutor Rivaldo Niero (UNIVALI) - Membro interno

Doutor Emerson Silva Lima (UFAM-AM) - Membro externo

Itajaí (SC), 25, fevereiro de 2010

*Ao meu pai, Nilton
pela dedicação, incentivo, sacrifícios...
e por me fazer acreditar que eu conseguiria realizar esse sonho.*

*Aos meus filhos Rian, Júlia e Pedro
pela compreensão da minha ausência
durante esses dois anos.*

“Dedico este sonho realizado, com todo o carinho e gratidão”

AGRADECIMENTOS

A Deus, por dar-me força e saúde para superar e enfrentar tantos obstáculos ao longo desse trajeto.

A minha família, especialmente a minha mãe e pai, pois sem o auxílio e a dedicação, não teria atingido os meus objetivos. Agradeço por toda a confiança depositada e por acreditar que sou capaz de conquistar os meus sonhos.

Aos meus filhos, por todos os momentos de alegria e de apoio, compreendendo o tempo que estive ausente e ao pai dos meus filhos, mesmo estando ausente, sempre se mostrou a disposição para eu terminar mais uma caminhada.

As minhas novas amigas Gislaíne Franciele e Maria Angélica, pelo apoio constante, pelos muitos experimentos realizados juntos, enfim pela amizade em si.

Agradeço também a Ticiane e a prof^a Nara por toda a disposição em me ensinar alguns modelos experimentais, cálculos estatísticos e pela amizade.

Um agradecimento, em especial, à prof^a Dr.^a Márcia Maria de Souza, a qual me orientou e me transmitiu seus ensinamentos, além de sua amizade.

A Universidade do Vale do Itajaí, aos professores, funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de conviver e adquirir novos e importantes conhecimentos.

A FAPESC pelo apoio financeiro me cedido.

Enfim, a todos aqueles que de alguma maneira acreditaram na realização e no sucesso deste trabalho, a todos que a mim dedicaram seu tempo e esforço e a todos que fazem parte da minha vida.

*"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."*

Martin Luther King

Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato bruto, frações e uma substância pura obtidos das folhas de *Litchi chinenses soon*

ROSANA CUSTÓDIO DA LUZ CASTELLAIN

Fevereiro/2010

Orientador: Dr^a. Márcia Maria de Souza

Co-orientador: Dr. Valdir Cechinel Filho

Área de Concentração: Produtos Naturais e Substâncias Sintéticas Bioativas.

Número de Páginas: 121

O presente trabalho avaliou a atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato bruto metanólico (EMB), fração acetato de etila (AcOEt) e uma substância pura procianidina B2 (PB2) obtidos das folhas de *Litchi chinenses soon*. Para tanto foram utilizados modelos farmacológicos de nocicepção como contorções abdominais induzida por ácido acético (AA), placa quente (PQ), glutamato (GL), capsaicina (CP), completo adjuvante de Freund (CFA) e formalina (FM), e como modelos farmacológicos de inflamação, o edema de pata (EP) e pleurisia (PL) induzidos por agentes flogísticos (AF), (Cg/carragenina, SP/substância P, His/histamina, BK/bradicinina). Modelo de Rota Rod (RR) foi utilizado como complementar. Os resultados demonstraram que a dose de 100 mg/Kg para o EMB e AcOEt, foi a que apresentou maior redução da nocicepção, de origem inflamatória, com as maiores IMs (inibição máxima) calculadas de (65±10% e 83±8%) respectivamente, para o modelo (AA), (63±6% e 71±1%), para (FM), (67±3% e 54±9%) para (GL). A PB2 na dose de 6 mg/Kg apresentou maior redução na nocicepção de origem neurogênica, com IM calculada de (41±5%) para (FM) e (31±1%) para (CP). Não houve alterações no desempenho motor dos animais tratados com essas substâncias no modelo de (RR). No modelo de (PL), a dose de 100 mg/Kg para o EMB e AcOEt, e a dose de 6 mg/Kg para a PB2, foram as que mais reduziram os eventos inflamatórios (migração leucocitária) induzidos por (Cg), com IMs de (62±3% e 63±8%) para 100 mg/Kg de EMB e AcOEt e de (40±5%) para 6 mg/Kg de PB2. As maiores IMs para o EMB (100 mg/kg) com os demais (AF), foram (60±6%; 40±6%) para a SP e His respectivamente. No modelo de (EP) induzido por (Cg), a dose de 50 mg/Kg foi a que se sobressaiu tanto para EMB, quanto para a AcOEt, com IMs de (48±2% e 46±3%) respectivamente. A dose de 6 mg/Kg da PB2 apresentou IM de 61±6%. Com os demais agentes flogísticos utilizados para o EMB, a dose de 100 mg/Kg foi a que apresentou maior redução do edema, com IMs de (48±6%, 50±2% e 35±3%) para SP, His e BK, respectivamente. Os resultados apresentados demonstraram a ação antinociceptiva e antiinflamatória do EMB, AcOEt e a PB2, sugerindo assim a necessidade de estudos adicionais com a finalidade de avaliar os mecanismos envolvidos nestes efeitos.

Palavra chaves: *Litchi chinenses soon*., nocicepção, inflamação, plantas medicinais.

Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activity of crude extract, fractions and a pure substance from the leaves of *Litchi chinenses* soon.

ROSANA CUSTÓDIO DA LUZ CASTELLAIN

February 2010

Supervisor: Dr. Márcia Maria de Souza

Co-orientador: Dr. Valdir Cechinel Filho

Area of Concentration: Natural Products and Synthetic Bioactive Substances

Number of Pages: 121

This work evaluates the antinociceptive and anti-inflammatory activity of crude methanol extract (CME), ethyl acetate fraction (EtOAc) and a pure substance procyanidin B2 (PB2) obtained from the leaves of *Litchi chinensis* soon. Pharmacological models of nociception were used, such as the writhing induced by acetic acid (AA), hot plate (HP), glutamate (GL), capsaicin (CP), complete Freund's adjuvant (CFA) and formalin (FM) tests, and as pharmacological models of inflammation, paw edema (PE) and pleurisy (PL) induced by phlogistic agents (PA), (Cg/carrageenan, SP/substance P, His/histamine, BK/bradykinin) were used. The Rota Rod (RR) model was used as a complementary test. The results demonstrate that a dose of 100 mg/kg for CME and EtOAc present a greater reduction in nociception of inflammatory origin, with the highest MI (maximum inhibition) calculated of (65±10% and 83±8%) respectively, for the model (AA), (63±6% and 71±1%) to (FM), (67±3% and 54±9%) and for (GL). The PB2 at a dose of 6 mg/kg, showed a greater reduction in perception of pain of neurogenic origin, calculated with MI (41±5%) for (FM) and (31±1%) for (CP). There were no alterations in motor performance in the animals treated with these substances in the (RR) model. In the (PL) model, the 100 mg/kg dose for CME and EtOAc, and the 6 mg/kg dose for PB2, were the ones that most reduced the inflammatory events (leukocyte migration) induced by (Cg), with MI (62±3% and 63±8%) to 100 mg/kg of CME and EtOAc and (40±5%) to 6 mg/kg of PB2. The main MI for CME (100 mg/kg) with others (PA) were (60±6%, 40±6%) for the SP and His respectively. In (Cg) induced (EP) model, the dose of 50 mg/kg was the one that stood out both for CME, and for the EtOAc with MI of (48±2% and 46±3%) respectively. The dose of 6 mg/kg MI of PB2 showed (61±6%). With the other phlogistic agents used for the CME, the dose of 100 mg/kg showed the greatest reduction of edema with MI (48±6%, 50±2% and 35±3%) for SP, and His BK, respectively. The results presented demonstrate the antinociceptive and anti-inflammatory CME, EtOAc and PB2, suggesting the need for additional studies to evaluate the mechanisms involved in these effects.

Key words: *Litchi chinenses* soon., nociception, inflammation, medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Nociceptores primários (fibras A α , A β , A δ e do tipo C).....	7
Figura 2	Propagação do processo doloroso, via ascendente. (1) estímulo e ativação dos nociceptores; (2) primeira conexão e ativação do reflexo de retirada; (3) projeção a centros superiores (percepção da dor)	8
Figura 3	Fisiologia da dor, via descendente.....	10
Figura 4	Mediadores envolvidos na nocicepção. Peptídeos (BK), lipídeos (PGs), neurotransmissores (5-HT), ATP e NGF.....	11
Figura 5	Primeiras manifestações locais da inflamação aguda comparadas com o tecido normal. (1) Vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo (causando eritema e calor). (2) Extravasamento e deposição de plasma e proteínas (edema). (3) Migração e acúmulo de leucócitos no local da lesão.....	13
Figura 6	Eventos celulares na inflamação. (1) Mecanismos de rolamento, (2) aderência, (3) diapedese, (4) quimiotaxia de neutrófilos (5) fagocitose, (6) apoptose.....	15
Figura 7	Principais metabólitos envolvidos na cascata do ácido araquidônico.....	18
Figura 8	Figura dos frutos da <i>Litchi chinenses soon</i>	31
Figura 9	Figura das partes aéreas da <i>Litchi chinenses soon</i>	31
Figura 10	Estrutura da procianidina. Fórmulas estruturais. a) flavonóide genérico; b) flavan-3-ol; c) procianidina	34
Figura 11	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses soon</i> (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (*p<0,05); (**p < 0,01) e (**p<0,001) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	42
Figura 12	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses soon</i> (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,001) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	43
Figura 13	Efeito do PB2, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses soon</i> (3, 6, 10, 30, 60 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos	

	seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas; (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	44
Figura 14	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (6, 12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), (A) na primeira fase neurogênica (0-5´) e (B) na segunda fase crônica (15-30´), da algesia induzida por formalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	45
Figura 15	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), (A) na primeira fase neurogênica (0-5´) e (B) na segunda fase crônica (15-30´), da algesia induzida por formalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	46
Figura 16	Efeito do PB2 (3, 6 e 10 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre a primeira (A) e segunda (B) fases do processo doloroso induzido por fomalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) e (*p<0,05) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	47
Figura 17	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + EMB (100 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + morfina (5 mg/Kg, s.c), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) e (*p<0,05) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (**p<0,01) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet.....	48
Figura 18	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + AcOEt (100 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + morfina (5 mg/Kg, s.c) sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p<0,01) e (*p<0,05) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (**p<0,001) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet	49
Figura 19	Efeito do PB2, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (6 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + PB2 (6 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg i.p) + Morfina (5 mg/Kg, s.c), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos	

	denotam significância estatísticas (**p<0,01) e (*p<0,05) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (**p<0,01) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet.....	50
Figura 20	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	51
Figura 21	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p<0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	52
Figura 22	Efeito do PB2, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (6 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p<0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	52
Figura 23	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas, quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	53
Figura 24	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (*p<0,05) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	53
Figura 25	Efeito do PB2, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (6 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p<0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet	54
Figura 26	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a frequência de resposta de animais avaliados em diferentes intervalos de tempo com filamentos de Von Frey, após a injeção i.pl. de CFA (20 ml/pata). Os dados são expressos como a média ± E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p<0,001) quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni	55
Figura 27	Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a frequência de resposta dos animais avaliados com filamentos de Von Frey em diferentes intervalos de tempo em animais após a injeção i.pl. de CFA	

	(20 ml/pata). Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância (** $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni.....	55
Figura 28	Efeito do PB2, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a frequência de resposta dos animais avaliados com filamentos de Von Frey em diferentes intervalos de tempo em animais após a injeção i.pl. de CFA (20 ml/pata). Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância (** $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni.....	56
Figura 29	Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg. A- extravazamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	59
Figura 30	Efeito da administração oral da fração AcOEt (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg. A- extravazamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$), (** $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	61
Figura 31	Efeito da administração oral da substancia pura PB2 (3, 6 e 10 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg (300 μ g/cav.). A- extravazamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$), (** $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	62
Figura 32	Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por SP (20 nmol/cav). A- extravazamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significâncias estatísticas (* $p < 0,05$); (** $p < 0,01$), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	64
Figura 33	Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina(10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por His (100 μ g/cav.). A- leucócitos totais, B- extravasamento vascular, C- neutrófilos e D- mononucleares. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.....	65

- Figura 34** Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por BK (10 nmol/cav.). A- extravasamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D- neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) e (**p < 0,001), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet 66
- Figura 35** Efeito do tratamento do EMB (100 mg/Kg, v.o); fração AcOEt (100 mg/kg, v.o), e substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o) obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon e gabapentina (GABA-70 mg/kg, v.o) sobre a performance motora dos animais avaliados no teste do Rota rod. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Os dados foram expressos como a média \pm E.P.M. de 6 animais em cada grupo. ANOVA seguido do teste *t* Student's comparando os grupos tratados com o controle 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Efeito das frações Diclorometano (DCM) e Hexano (HEX), obtidos de <i>Litchi chinenses</i> soon no modelo de ácido acético e formalina.....	47
Tabela 2	Comparação da atividade antinociceptiva do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2 obtidos das folhas da <i>Litchi chinenses</i> soon, com analgésicos de referencia em diferentes modelos de nocicepção e hipernocicepção	57
Tabela 3.	Efeito do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2, obtidos das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon, no modelo de edema de pata induzido por Cg (300 µg/pata).....	67
Tabela 4	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon, no modelo de edema de pata induzido por SP (20 nmol/pata).....	68
Tabela 5.	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon, no modelo de edema de pata induzido por His (300 µg/pata).	69
Tabela 6.	Efeito do EMB, obtido das folhas de <i>Litchi chinenses</i> soon, no modelo de edema de pata induzido BK (3nmol/pata)	70

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etila
ACh	Acetilcolina
AINE	Antiinflamatório não esteroideal
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina tri-fosfato
BK	Bradicinina
B1	Receptor de bradicinina 1
B2	Receptor de bradicinina 2
CAMs	Moléculas de adesão celular
C	Complemento
C3,a,b	Complemento 3,3a,3b
CB1	Receptor canabinóide1
CFA	Completo adjuvante de Freund
Cg	Carragenina
Col.	Colaboradores
COX	Ciclooxygenase
COX1	Cicloxigenase1
COX2	Cicloxigenase2
COX3	Cicloxigenase3
DEX	Dexametasona
EECP	Extrato etanólico das folhas de <i>Conocliniopsis prasiifolia</i>
EMB	Extrato metanólico bruto
FC	Fitocannabinóides
H1	Receptor histamina 1
H2	Receptor histamina 2
H3	Receptor histamina 3
His	Histamina
Ig M,G,E	Imunoglobulina M,G,E
i.p	Intraperitoneal
i.pl	Intraplantar

i.ple	Intrapleural
i.v	Intravenoso
IL	Interleucina
ICAM-1	(Molécula de adesão intracelular-1/Intercellular adhesion molecule-1)
ICAM-2	(Molécula de adesão intracelular-2/ Intercellular adhesion molecule 2)
ICAM-3	(Molécula de adesão intracelular-3/ Intercellular adhesion molecule 3)
i-NOS	Óxido nítrico sintase induzida
k	Receptor Kapa
LFP	Pericarpo do fruto da <i>Litchi</i>
LOXs	Lipooxigenases
LT-A4,B4	Linfócito T - A4, B4
NCAM	(Molécula de adesão de células neurais/Neural cell adhesion molecule)
NGF	Fator neurotrófico do nervo
NIQFAR	Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NRM	Núcleo magno da rafe
PAF	Fator de ativação plaquetária
PAG	Substância cinzenta periaquedutal
PB2	Procianidina B2
PECAM-1	Molécula de adesão endotelial 1
PGs	Prostaglandinas
PGE2, H2	Prostaglandina E2, H2
PGD2,F2	Prostaglandina D2, F2
PGI2	Prostaciclina I2
RVM	Medula retro ventromedial
s.c	Sub-cutânea
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	Sistema Nervoso Periférico
SP	Substância P
TNFα	Fator de necrose tumoral
TX, TXA2	Tromboxanos, Tromboxano A2
μ	Receptor mu

VCAM-1 (Molécula de adesão de células vasculares-1/Vascular cell adhesion-1)

v.o Via Oral

Δ^9 -THC Delta 9 tetrahydrocannabinol

δ Receptor delta

5-HT 5 hidroxytriptomina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos	3
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1 Aspectos gerais do processo doloroso	4
3.1.1 Conceito	4
3.1.2 Classificação dos processos dolorosos	5
3.1.3 Transmissão do processo doloroso	6
3.1.4 Modulação do processo doloroso	9
3.2 Aspectos gerais do processo inflamatório	12
3.2.1 Principais mediadores envolvidos na inflamação	16
3.3 Tratamento farmacológico da dor e inflamação	23
3.4 Importância das plantas medicinais com propriedades analgésica e antiinflamatória	28
3.5 Da planta em estudo	30
3.5.1 Litchi chinenses soon	30
3.5.2 Constituintes químicos e atividade farmacológica	31
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 Preparação do extrato, análise fitoquímica e isolamento da substância pura	33
4.1.1 Obtenção do extrato bruto, fração e substância pura	33
4.1.2 Drogas e soluções	34
4.2 Animais	35

4.3 Testes farmacológicos.....	35
4.3.1 Modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	35
4.3.2 Modelo de Formalina.....	35
4.3.3 Modelo de placa quente.....	36
4.3.4 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de glutamato	36
4.3.5 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de capsaicina	37
4.3.6 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de CFA	37
4.3.7 Modelo de pleurisia induzido por diferentes agentes flogísticos	38
4.3.8 Modelo de edema de pata induzida por diferentes agentes flogísticos	39
4.3.9 Verificação da função motora dos animais: Modelo do Rota-Rod.....	40
4.4 Análise estatística	40
4.5 Cálculos utilizados para obtenção das IMs (inibição máxima)	41
5 RESULTADOS.....	42
6 DISCUSSÃO	72
7 CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais, sobretudo as plantas, como recurso terapêutico é uma prática antiga que acompanha a evolução da humanidade. Plantas com propriedade curativas e utilizadas popularmente com objetivo de tratamento para alguma enfermidade são denominadas “plantas medicinais”. A utilização destas plantas baseava-se na crença popular e apesar do emprego empírico, as mesmas continuam a ser usadas pela população até os dias atuais e, jamais foram completamente substituídas pelos fármacos sintéticos (BRESOLIN; CECHINEL-FILHO, 2003). Em virtude disso, surgiu a necessidade de se estudar o uso e o conhecimento das plantas pelos grupos humanos de diferentes culturas e captar informações, as quais podem ser empregadas na procura de substâncias biologicamente ativas que pudessem ser utilizadas na produção de medicamentos (COUTINHO; TRAVASSOS; AMARAL, 2002).

Segundo Simões e colaboradores (2004), a necessidade de estudos e procura de novos medicamentos por meio de plantas medicinais é mais fortalecida quando nos deparamos com situações relacionadas a doenças resistentes ao arsenal de fármacos atuais. Para fazer frente a essa realidade, pesquisas de novos fármacos originados de produtos naturais estão crescendo e, o percentual de novos produtos obtidos de plantas consumidos na forma de fitoterápicos ou suplementos alimentares aumenta ano após ano (SIMÕES e cols., 2004).

No Brasil, apesar do emprego tradicional de plantas medicinais e/ou fitoterápicos por anos, o registro de medicamentos preparados com plantas medicinais ainda é pequeno, o que revela o pouco aproveitamento, pelos brasileiros, da grande biodiversidade do país e da riqueza de suas plantas com potencial farmacológico. Neste sentido, muitas plantas que são utilizadas popularmente com finalidade terapêutica continuam sem validação científica (LORENZI; MATOS, 2002).

Ao longo dos anos, várias plantas utilizadas na medicina popular Brasileira, tiveram suas propriedades analgésicas e antiinflamatórias comprovadas através de modelos farmacológicos específicos. Pode-se citar como detentora de propriedade analgésica a, “Batata da praia” (*Ipomea pes-caprae*) (SOUZA e cols., 2000), (*Rubus imperialis*) (NIERO e cols., 2002), “Arnica brasileira” (*Lychnophora ericoides*) (LOPES,

2003), “Corda-de-viola” (*Ipomoea cairica*) (FERREIRA e cols., 2006), “Jalapa” (*Mandevilla velutina*) (MATTOS e cols., 2006), “Trombeteiro” ou “Saia-branca” (*Brugmansia suaveolens*) (PARKER e cols., 2007), dentre outras. Com ação antiinflamatória comprovada podemos citar: *Calophyllum brasiliense* (DA SILVA e cols., 2001); *Curcuma zedoaria* (NAVARRO e cols., 2002), *Bouchea fluminensis* (COSTA e cols., 2003), *Bryophyllum calycinum* Salisb (SOUSA e cols., 2005), *Cissampelos pareira* (AMRESH e cols., 2007a) e muitas outras.

Em Santa Catarina especificamente, a tradição de se utilizar as plantas medicinais no tratamento de enfermidades é um dos legados deixados não só por nossos ancestrais indígenas, como também por nossos colonizadores europeus que introduziram na flora catarinense muitas espécies originárias da Europa.

Nos últimos anos o Núcleo de Investigação Químico-Farmacêuticas da Univali (NIQFAR) tem se destacado ao validar cientificamente muitas plantas da flora Catarinense utilizadas na medicina popular. Destacam-se aqui os longos anos de trabalho, resultando inclusive em parceria com a indústria farmacêutica para a produção de um medicamento genuinamente catarinense obtido da planta *Aleurites molucana*.

Dando continuidade á esses trabalhos, uma nova planta foi introduzida nas pesquisas, com o propósito de aprofundar os estudos sobre as propriedades antinociceptiva e antiinflamatória. Trata-se de *Litchi chinenses* soon, planta asiática muito bem adaptada em nossa região, usada popularmente para tratamento do processo inflamatório e doloroso.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato metanólico bruto, frações e substância pura (procianidina B2) obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, através de modelos farmacológicos específicos.

2.2 Objetivos específicos

a) Verificar o efeito antinociceptivo do extrato metanólico bruto, frações e substância pura (procianidina B2), em modelos de nocicepção induzida por estímulos químicos (ácido acético, formalina, capsaicina, glutamato) e estímulo térmico (placa quente);

b) Verificar o efeito antinociceptivo do extrato metanólico bruto, frações e substância pura (procianidina B2), em um modelo de hipernocicepção crônica induzida pelo completo adjuvante de Freund (CFA);

c) Avaliar o efeito antiinflamatório do extrato metanólico bruto, frações e substância pura (procianidina B2), através do modelo de pleurisia induzida por diferentes agentes flogísticos;

d) Avaliar o efeito antiedematogênico, do extrato metanólico bruto, frações e substância pura (procianidina B2), através do modelo de edema de pata induzida por diferentes agentes flogísticos;

e) Verificar se o extrato metanólico bruto, frações e a substância pura (procianidina B2), interferem no sistema motor dos animais através do modelo de Rota Rod;

f) Comparar os efeitos do extrato metanólico bruto, frações e da substância pura (procianidina B2), com fármacos analgésicos e antiinflamatórios clássicos.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Aspectos gerais do processo doloroso

3.1.1. Conceito

O Sistema nervoso sensorial é a parte do sistema nervoso responsável pela análise dos estímulos provenientes do meio ambiente externo e interno do organismo. Encontrado em todos os filós, desde os seres inferiores aos mais adaptados e evoluídos, possui o papel de detectar e desencadear reações frente a um estímulo externo. Dentro da evolução genética característica de cada espécie, substâncias transdutoras contribuíram para diferenciar o estímulo agressivo do inócuo. Os receptores nervosos periféricos para a dor foram ao longo do tempo se desenvolvendo, facilitando a condução nervosa após estímulos de alto limiar, sempre com o objetivo de evitar situações desagradáveis, manter as funções fisiológicas e preservar a vida (KRAYCHETE; CALASANS; VALENTE, 2006).

O sistema nervoso sensorial capacita o indivíduo à nocicepção e a dor propriamente dita. Fisiologicamente há uma diferença entre os termos nocicepção e dor geralmente confundidos. A nocicepção está relacionada com manifestações neurofisiológicas, geradas por um estímulo nocivo, enquanto a dor além de envolver um estímulo potencialmente nocivo, tem conotação individual e é representada por experiências subjetivas, incluindo fatores afetivos e emocionais, que aumentam ou diminuem a sensação dolorosa (MILLAN, 1999; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIC, 2004).

Sendo assim, a dor pode ser definida como uma sensação desagradável, criada por um estímulo nocivo, que atinge o sistema nervoso central por meio de vias específicas. É um sintoma de muitas desordens clínicas e afeta grande parte da população (BESSON; DICKENSON, 1997). Ela é uma das características dos mecanismos protetores fisiológicos normais e como já foi relatado, uma das suas funções é a de preservar o organismo evitando assim o dano tecidual (OLIVEIRA, 2003).

O processo doloroso de origem inflamatória envolve uma complexa cascata de

eventos bioquímicos e celulares que incluem extravasamento de fluídos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, lise celular e de reparo (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998a). A transmissão dolorosa é um mecanismo dinâmico e multimediado que envolve várias interações de estruturas do sistema nervoso central (SNC) e periférico (SNP) desde a superfície da pele até o córtex cerebral (GOZZANI, 2003; VALE, 2007).

3.1.2 Classificação dos processos dolorosos

A dor pode ser classificada de acordo com vários critérios, como duração, topografia e intensidade. Também pode ser caracterizada segundo a fisiologia. De acordo com os critérios temporais ela pode ser transitória, aguda ou crônica (FUCHS; WANNMACHER; FERREIRA, 2006). Na dor transitória há ativação dos nociceptores independente da existência ou não de qualquer dano tecidual, sendo este tipo de dor responsável pela proteção do organismo frente a possíveis danos físicos oriundos de estresse tecidual ou mesmo ambiental (LOESER; MELZACK, 1999).

A dor aguda caracteriza-se por ser pontual, delimitada, com estimulação dos nociceptores (fibras A-delta e C) através de estímulos nociceptivos, que podem ser térmicos, mecânicos, ou químicos (HUNT; MANTYH, 2001; IKEDA e cols., 2001; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIK, 2004; COUTAUX e cols., 2005) e desaparece com a resolução do processo patológico.

Já a dor crônica geralmente é aquela que persiste após terminado o processo causador do estímulo nociceptivo, porém há exceções como na artrite crônica onde a lesão permanece. Difere da dor aguda por não possuir função fisiológica e é acompanhada por fenômenos neurovegetativos e neuroadaptativos (LOESER; MELZACK, 1999; CARR; GOUDAS 1999; ALMEIDA; ROIZENBLATT, TUFIC, 2004).

Pode-se dizer então que a dor crônica é um estado de constante facilitação da condução nervosa, quando estímulos que anteriormente inócuos podem ser interpretados como dor (alodínia) ou quando a resposta ao estímulo doloroso não é proporcional à intensidade da agressão (hiperalgesia)” (KRAYCHETE; CALASANS; VALENTE, 2006).

A dor crônica pode ser de origem inflamatória ou nociceptiva, sendo que a dor nociceptiva geralmente é tratada com medicamentos antiinflamatórios e/ou analgésicos, enquanto que a dor neuropática geralmente é tratada com medicamentos que influenciam nos neurotransmissores, como os antidepressivos, antiepilépticas ou opióides (MAIZELS; MCCARBERG, 2005).

Freqüentemente, o processo inflamatório está presente principalmente na dor crônica, sendo este, resultado da lesão tecidual, reatividade imune anormal ou lesão nervosa (STAIN; SCHAFER; MACHELSKA, 2003).

3.1.3 Transmissão do processo doloroso

A propagação da dor inicia-se com a ativação de nociceptores encontrados na pele, membranas, tecidos conectivos de órgãos viscerais, ligamentos, cápsulas articulares, periósteo, músculos, tendões e vasos sanguíneos (JULIUS; BASBAUM, 2001).

A rota clássica da condução dolorosa é composta por nociceptores primários que correspondem às terminações nervosas livres e representam à parte mais distal dos neurônios aferentes de primeira ordem, que consistem nas fibras de pequeno diâmetro, do tipo A δ e C (Figura 1).

Apenas as fibras C e A δ em condições normais, transmitem informações nociceptiva da periferia à medula espinhal, porém estudos em animais transgênicos associados a informações fisiológicas, farmacológicas e bioquímicas, demonstraram o importante papel de todas as fibras sensoriais nos processos de dor persistente (DRAY, 1997; GRUBB, 1998; BESSON, 1999).

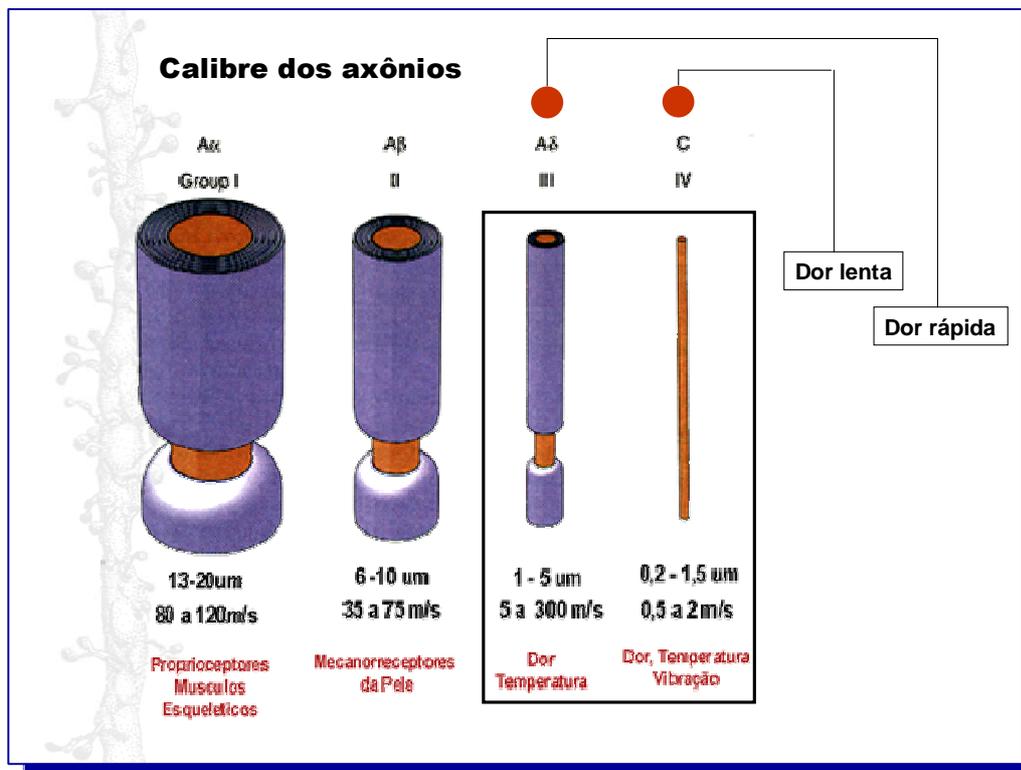


Figura 1. Nociceptores primários (fibras A α , A β , A δ e do tipo C). Retirado de http://www.qmc.ufsc.br/artigos/dor/o_que_eh_dor.htm Acessado em 10 de fevereiro de 2010.

Apenas as fibras A δ (III) e C (IV), em condições normais, transmitem informações nociceptivas. As fibras se diferenciam pelo calibre o qual as fibras A δ são pouco mielinizadas e de médio diâmetro, mediando à dor de origem aguda (dor rápida), enquanto que as fibras do tipo C não são mielinizadas e possuem pequeno diâmetro, mediando à dor de origem inflamatória (mais prolongada) (JULIUS; BASBAUM, 2001).

Diferentes feixes ascendentes que se formam devido à interação dos neurônios de primeira e segunda ordem no corno dorsal da medula espinhal dão origem a diversas vias ascendentes, sendo classificadas em dois grupos, monossinápticos e polissinápticos. As vias de projeção monossinápticas são projetadas diretamente a estruturas cerebrais superiores e incluem os feixes, espino-talâmico, espino-reticular, espino-mencefálico, espino-parabraquio-amigdalóide, espino-parabraquio-hipotalâmico, espino-hipotalâmico) e neoespinotalâmico. As vias de projeção polissináptico, apresentam uma estação de retransmissão a neurônios de segunda

ordem que levam a informação nociceptiva aos centros superiores cerebrais e consistem nos feixes paleoespinalâmico, espinocervial e coluna dorsal polissináptica (MILLAN, 1999; ALMEIDA; ROIZENBLATT; TUFIC, 2004).

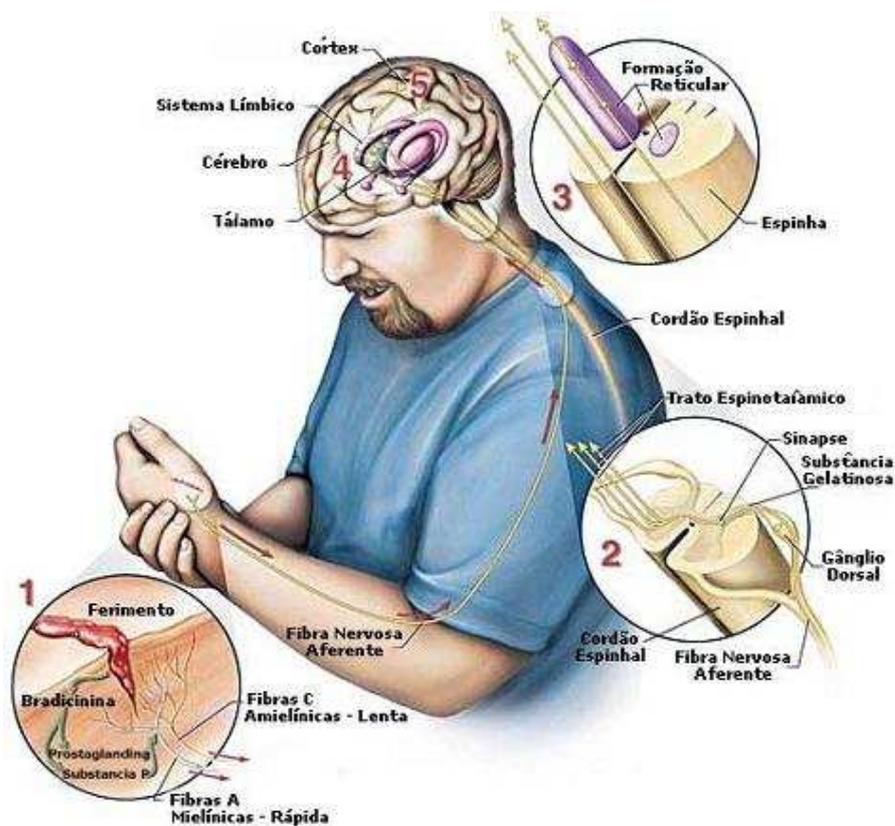


Figura 2. Propagação do processo doloroso, via ascendente. (1) estímulo e ativação dos nociceptores; (2) primeira conexão e ativação do reflexo de retirada; (3) projeção a centros superiores (percepção da dor). Adaptação de Ferrel BA; Ferrel BR; Osterview, D.,1990.

Esses nociceptores primários (que consistem nas fibras de pequeno diâmetro, do tipo A δ e do tipo C) fazem sinapse na medula espinhal com os interneurônios de segunda ordem. Estes cruzam a medula e ascendem pelo trato espinotalâmico e/ou paleoespinalâmico terminando no tálamo (Figura 3). No tálamo ocorre a sinapse com os neurônios de terceira ordem e estes fazem conexão com a córtex somato-sensorial, local onde ocorre a somatização deste estímulo. Estes neurônios ainda podem emitir

seus axônios para o giro cingulado anterior onde a dor irá sofrer as influências do componente emocional e ser modulada via liberação de neurotransmissores específicos (BESSION, 1999; JABBUR; SAADÉ, 1999).

3.1.4 Modulação do processo doloroso

Uma vez que o estímulo doloroso chega aos centros superiores, a “sensação” dolorosa é percebida e uma série de processos fisiológicos e bioquímicos podem ocorrer para amenizar a sensação do processo ou amplificar o estímulo. Na modulação do processo as vias descendentes tem papel prioritário.

As vias descendentes (Figura 3), têm origem no tronco cerebral e de outras estruturas como hipotálamo, córtex, tálamo, núcleo magno da rafe (NRM), substância cinzenta periaquedutal (PAG), além de estruturas adjacentes da medula rostroventromedial (RVM) que exercem um importante papel na modulação e integração das mensagens nociceptivas no corno dorsal (MILLAN, 1999; VANEGAS; SCHAIBLE, 2004).

Nessa via os neurônios talâmicos descem para o mesencéfalo e fazem sinapses nos caminhos ascendentes da medula e da espinha dorsal inibindo sinais dos nervos ascendentes, produzindo alívio da dor (analgesia). Um pouco desse alívio vem da estimulação dos neurotransmissores opióides naturais de alívio da dor chamados de endorfina, dinorfina e encefalina (CRAIG, 2007).

Os mecanismos descendentes são moduladores da resposta nociceptiva por exercer suas funções tanto em nociceptores presentes nas fibras primárias aferentes, bem como em neurônios intrínsecos do corno dorsal, como interneurônios excitatórios e inibitórios. Os mediadores envolvidos na modulação das vias descendentes não estão totalmente esclarecidos, porém há grande possibilidade de que as vias serotoninérgica e noradrenérgica, e em menor extensão a dopaminérgica, contemplam os maiores componentes deste mecanismo (MILLAN, 1999; VANEGAS; SCHAIBLE, 2004).

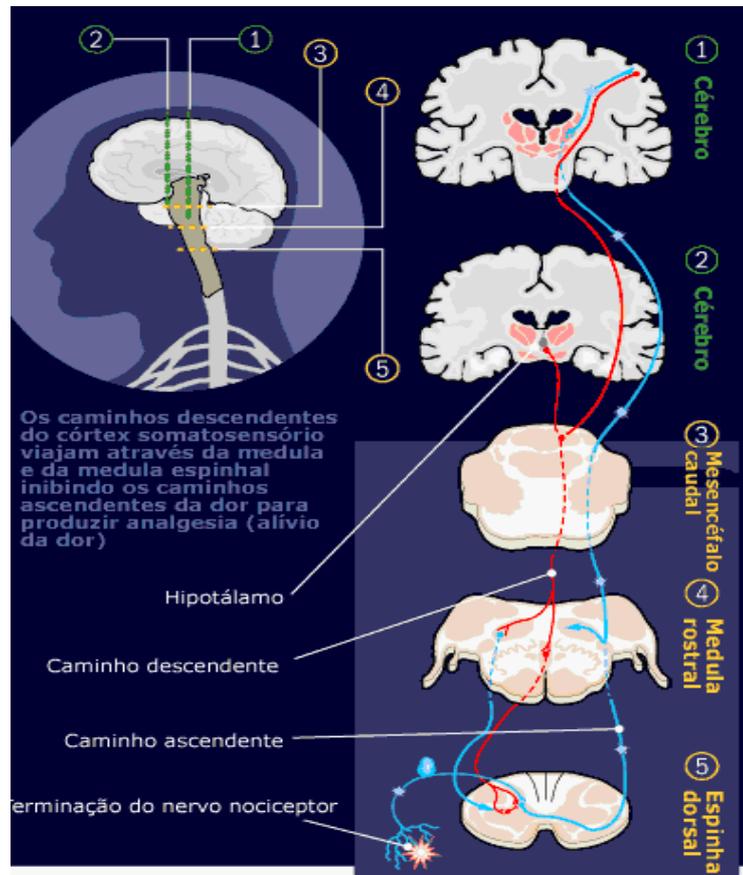


Figura 3. Fisiologia da dor, vias descendentes. Adaptação de Craig, 2007.

São diversos os mediadores inflamatórios e/ou nociceptivos (figura 4), que, quando liberados por macrófagos, mastócitos e células endoteliais, tais mediadores, promovem a despolarização das fibras nervosas tipos A δ e C, que irão conduzir impulso doloroso, iniciado em tecidos diferentes, facilitando assim a transmissão dolorosa e as alterações inflamatórias periféricas (KRAYCHETE; CALASANS; VALENTE, 2006). De maior destaque podemos encontrar a acetilcolina (ACh), a substância P (SP), as cininas (bradicinina- BK), os leucotrienos, o fator de ativação plaquetário (PAF), as prostaglandinas (PGs), o tromboxano, as citocinas, a histamina (His) e serotonina (5-HT), adenosina de trifosfato (ATP), fatores de crescimento neuronal (NGF), entre outros (DRAY, 1997; JULIUS; BASBAUM, 2001; SAWYNOK, 2003).

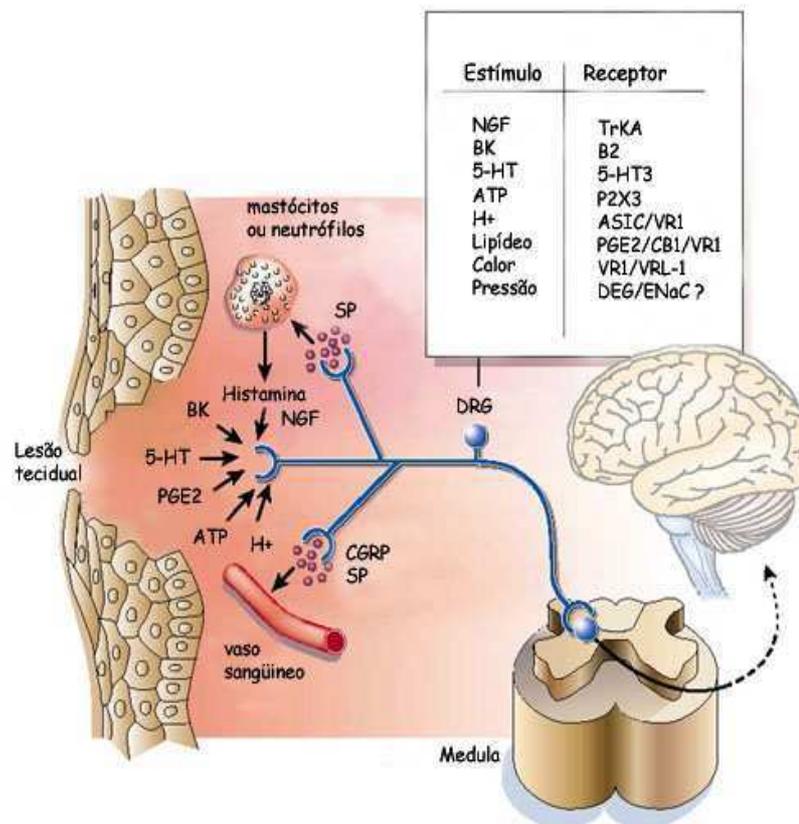


Figura 4. Mediadores envolvidos na nociceção. Peptídeos (BK), lipídeos (PGEs), neurotransmissores (5-HT e ATP) e neurotrofinas (NGF). Adaptação de Julius; Basbaum 2001.

Estudos indicam que aminoácidos excitatórios como o glutamato, que é encontrado primeiramente nas fibras sensoriais C, apresentam um papel importante na transmissão da informação nociceptiva da medula espinhal até estruturas centrais (BEIRITH; SANTOS; CALIXTO, 2002). Nas fibras C o glutamato coexiste com peptídeos como a SP. Desta forma um estímulo nocivo liberaria ambos, peptídeos e aminoácidos excitatório das fibras nociceptivas aferentes e estes agiriam de maneira sinérgica na transmissão da dor (DICKENSON, 1999).

Segundo Millan (1999), não há uma só via (ascendente ou descendente) envolvida tanto na dor clínica quanto na dor induzida em modelos experimentais que colabore para a condução e perpetuação do estímulo nociceptivo. Como ocorre ativação de múltiplas vias sensoriais, que irão convergir e interagir com estruturas supraespinhais, promovendo sensação global de dor. Tudo dependerá do local, tipo e

duração do estímulo, assim como dos componentes afetivos e emocionais envolvidos (MILLAN, 1999).

3.2 Aspectos gerais do processo inflamatório

Na maioria das situações o processo inflamatório está relacionado aos mecanismos que envolvem a nocicepção (LEVINE, 1999). A reação inflamatória é um evento complexo, envolvendo o reconhecimento do agente e/ou estímulo lesivo, para sua posterior destruição e formação de um novo tecido (SCHMID-SCHÖNBEIN, 2006).

A inflamação é uma reação do tecido vivo vascularizado frente a uma agressão local. É a maneira como nosso organismo se defende contra uma lesão tecidual causada por agentes físicos (trauma mecânico, radiação, calor, frio), químicos (substâncias irritantes e outros) ou biológicos, provocada por microorganismos em geral. Tem como função erradicar esses microorganismos e/ou agentes irritantes e potencializar o reparo tecidual (LIEW, 2003).

O processo inflamatório foi caracterizado primeiramente por quatro sinais, descritos há mais de 2000 anos por Cornelius Celsus: rubor, calor, tumor e dor. O quinto sinal da inflamação, que é a perda da função dos órgãos foi mencionado mais tarde por Virchow, no século XIX. Quando o processo reparatório se completa, naturalmente o processo inflamatório e seus sinais desaparecem (WANNMACHER; FERREIRA, 2004).

O processo inflamatório se divide em duas categorias, de acordo com o critério temporal, em inflamação aguda e inflamação crônica. A inflamação aguda é de curta duração (horas a dias) caracterizada por vasodilatação arteriolar e venular, edema (extravasamento de fluido rico em proteínas e plasma) e migração de células, primariamente neutrófilos (Figura 5), com possível ativação da cascata da coagulação (SPLETTSTOESSER; SCHUFF-WERNER, 2002).

A fase crônica da inflamação que é sempre precedida pela inflamação aguda, já tem uma duração mais longa (semanas, meses ou até anos) e se caracteriza por migração leucocitária, principalmente monócitos, linfócitos, plasmócitos e fibroblastos, além de sinais de regeneração e reconstrução da matriz conjuntiva (CORREA, 2000).

Segundo Liew (2003), são exemplos de reação inflamatória crônica a artrite reumatóide, o lúpus eritematoso sistêmico, a silicose, a aterosclerose e doenças inflamatórias intestinais como a doença de Crohn e colite ulcerativa (LIEW, 2003).

Estas doenças inflamatórias crônicas afetam 20 milhões de pessoas no mundo inteiro, acarretando ônus pessoal (dor e incapacidade funcional) e perdas econômicas inestimáveis. O tratamento para estes males não deveria produzir grandes riscos, necessitando ser eficaz e seguro (WANNMACHER; FERREIRA, 2004).

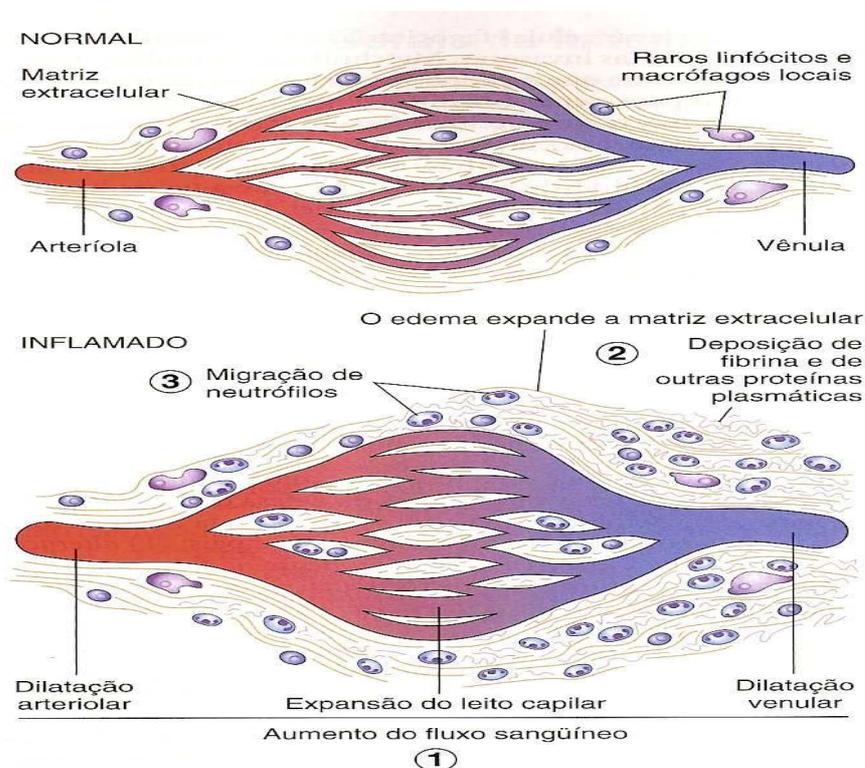


Figura 5. Primeiras manifestações locais da inflamação aguda comparadas com o tecido normal. (1) Vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo (causando eritema e calor). (2) Extravasamento e deposição de plasma e proteínas (edema). (3) Migração e acúmulo de leucócitos no local da lesão. Adaptação de Kumar; Abbas; Fausto, 2005.

Os eventos vasculares, (Figura 5) consistem em dilatação inicial das pequenas arteríolas, resultado em aumento e redução do fluxo sanguíneo, seguido de estase do sangue e aumento da permeabilidade das vênulas pós-capilares, com exsudação de

líquido (HANG; DALE; HITTER, 2000).

A vasodilatação é a característica mais clássica da inflamação aguda. Ela é produzida por diversos mediadores como His, PGE₂, IL dentre outros. Primeiramente a vasodilatação é mediada pelo óxido nítrico e PGs vasodilatadoras. O NO[•] é produzido a partir da L-arginina através da ação do óxido nítrico sintase (NOS). Os leucócitos ativados produzem NOS indutível depois da exposição a produtos microbianos e citocinas pró-inflamatórias (VALLANCE; CHAN, 2001).

O edema (exsudato líquido) contém uma série de mediadores que influenciam as células, assim como os próprios vasos sanguíneos. Esse mediadores incluem a His, BK, leucotrienos, SP, componentes do sistema complemento, PAF, dentre outros (DENZLINGER e cols., 1985). Eles favorecem o aumento da permeabilidade capilar e venular ao plasma e as proteínas (DEMLING e cols., 1982, DEMLING; KRAMER; HARMS, 1984).

O exsudato é transportado por vasos linfáticos até os gânglios linfáticos ou tecidos linfóides locais, onde os produtos do microorganismo invasor podem iniciar uma resposta imune. O edema inflamatório é a marca registrada da inflamação aguda; ele associado ao aumento da pressão hidrostática secundária à vasodilatação, resulta em uma acentuada perda de líquidos e seu acúmulo no tecido intersticial, o que caracteriza o edema (KUMAR; ARYA, 2005).

A migração leucocitária acontece (Figura 6), através da marginação (movimento dos neutrófilos da corrente sanguínea para a periferia das veias),(1) rolamento (proporcional a velocidade das células vermelhas), (2) adesão (permite a fixação dos neutrófilos), (3) diapedese ou transmigração (saída da célula do vaso e passagem para o tecido lesado), (4) quimiotaxia (chamada de células inflamatórias para o local) e liberação de collagenase que degradam a membrana basal quando a célula inflamatória alcança a região entre endotélio e membrana basal, chegando ao interstício (ROSEN, 1993; ALON e cols., 1996;). Esse processos ocorrem por ação das moléculas de adesão presentes no leucócito e no endotélio onde se aderem.

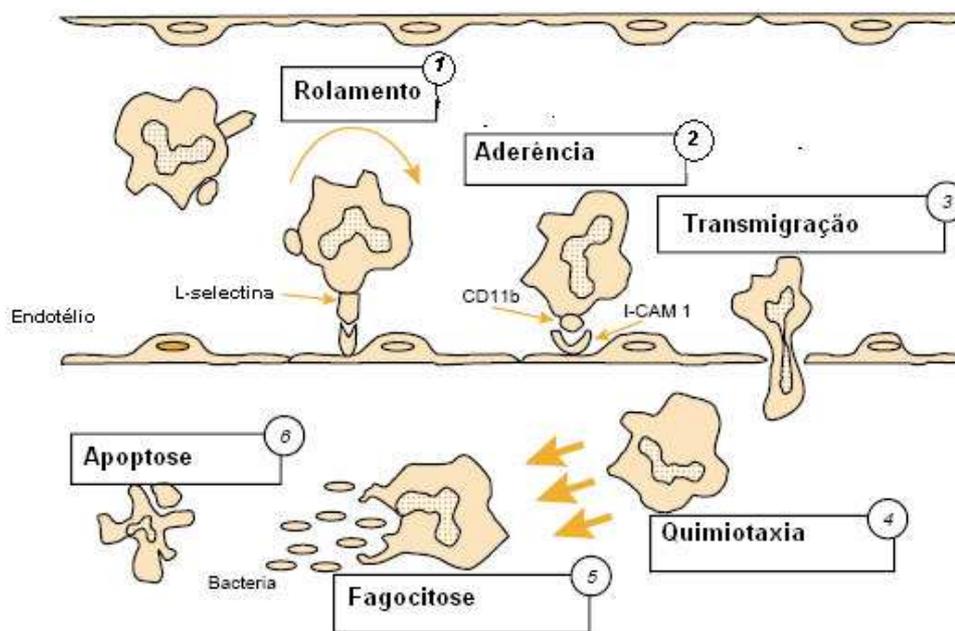


Figura 6. Eventos celulares na inflamação. (1) Mecanismos de rolamento, (2) aderência, (3) diapedese, (4) quimiotaxia de neutrófilos (5) fagocitose, (6) apoptose. Adaptação de Coutinho e col., 2009.

As moléculas de adesão celular (CAMs) são glicoproteínas expressas na superfície celular, onde são mediadoras do contato entre duas células ou entre células e a matriz extracelular. Segundo Gomes e cols., (2009), as moléculas de adesão são representadas por quatro famílias, sendo elas as selectinas, que são formadas por três proteínas E-selectina, P-selectina e a L-selectina (são dependentes de cálcio e atuam junto as integrinas onde fazem a migração dos leucócitos através do vasos sanguíneo e ajudam a fixar o leucócito ao endotélio). As integrinas, também são dependentes de cálcio, encontram-se nos leucócitos, promovendo a aderência e/ou adesão maior do leucócito ao endotélio. As imunoglobulinas, que são independentes do cálcio, ligam células vizinhas através de interações homofílicas ou heterofílicas. Na família das imunoglobulinas encontramos moléculas de adesão celular neuronal (NCAM) e moléculas expressas no endotélio vascular (VCAM-1, PECAM-1, ICAM-1,2,3, dentre outros). As caderinas, que permitem ligação entre as células vizinhas, sendo estas

constituídas de proteínas que mediam a adesão célula-célula dependente de cálcio nas junções celulares (GOMES e cols., 2009).

3.2.1 Principais mediadores envolvidos na inflamação

O processo inflamatório é desenvolvido e mantido mediante à liberação de vários mediadores químicos. Dentre eles, os mais importantes são as aminas vasoativas (His), SP, derivados do ácido araquidônico, NO⁻, citocinas, PAF e componentes do sistema complemento, cininas e fatores de coagulação.

a) Aminas vasoativas: Histamina e Serotonina

De acordo com Hebert; Just; Schmidt, (2001), a histamina é uma amina básica, sintetizada a partir da histidina pela L-histidina descarboxilase e é encontrada em mastócitos, basófilos e plaquetas, sendo liberada por exocitose durante as reações inflamatórias ou alérgicas com participação do sistema complemento (C3a e C35), IgE, citocinas (IL-1 e IL-8) e SP (OKABE e cols., 2000; HEBERT; JUST; SCHIMIDT, 2001).

A histamina desempenha papéis importantes na resposta inflamatória, onde seus efeitos são produzidos através da ligação a receptores histamínicos específicos associados a proteína G. O receptor H1 encontra-se nas células endoteliais e na musculatura lisa vascular. Quando ativados provocam vasodilatação (complementados pela produção de óxido nítrico e participação do receptor H2), aumento da permeabilidade vascular e adesão de neutrófilos ao endotélio (JANSEN-OLESEN e cols.,1997;). Hebert; Just; Schmidt, (2001), sugerem que a His pode atuar na nocicepção através dos receptores H1 presente em neurônios aferentes primários. Os receptores H2 também participam na ação gástrica, e os receptores H3 que estão localizados no sistema nervoso central e periférico, afetam a síntese e liberação pré-sináptica de histamina e outros neurotransmissores (HEBERT; JUST; SCHIMIDT, 2001).

A serotonina (5-HT), tem a mesma função da Histamina, sendo encontrada nas plaquetas. Possui sete tipos de receptores (5-HT₁₋₇) e todos estão acoplados a proteína G, exceto o 5-HT₃, que é um canal de cátions controlado por ligante.

As ações da 5-HT são numerosas e seu principal local de ação é o trato gastrointestinal, onde atua na regulação da função gastrointestinal (peristaltismo). A estimulação dos receptores 5-HT₄ pré-sinápticos amplifica a neurotransmissão em neurônios entéricos, gerando um aumento da atividade pró-cinética no intestino e também influenciando na regulação da motilidade do colo (GOADSBY e cols., 2002). Atuam também na musculatura lisa contraindo-a; nos vasos sanguíneos onde ela atua de duas formas, causando constrição em vasos de grande calibre e vasodilatação por ação nas células endoteliais induzindo a liberação de NO⁻, e em parte, por inibição da liberação de noradrenalina das terminações nervosas simpáticas.

A 5-HT também atua nas plaquetas causando agregação plaquetária e nas terminações nervosas sensitivas nociceptivas que são as mediadoras da dor, onde, quando administrada sistematicamente desencadeia uma variedade de reflexos autônomos por meio de estimulação das fibras aferentes no coração e pulmões.

b) Substância P

A SP e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) são liberados por neurônios aferentes, porém estudos em ratos têm mostrado sua produção por células inflamatórias como macrófagos, linfócitos e células dendríticas (OKABE e cols., 2000; JOOS; GERMONPRE; PAUWELS, 2000; O'CONNOR e cols., 2004). A SP promove a inflamação devido seus efeitos sobre os vasos sanguíneos, provocando vasodilatação e alterando a permeabilidade vascular (PERNOW, 1983) além de induzir a degranulação dos mastócitos, liberando mediadores químicos inflamatórios como citocinas, espécies reativas de oxigênio, derivados do ácido araquidônico e Histamina que potencializam a lesão tecidual, e estimulam o recrutamento de leucócitos, amplificando a resposta inflamatória (ANSEL e cols., 1993; COVAS; PINTO; VICTORINO, 1994; HO e cols., 1996; HOLZER; HOLZER-PETSCHKE, 1997).

c) Derivados do ácido araquidônico: eicosanóides

Através de alguns estímulos ou de mediadores, os fosfolípidios das membranas celulares liberam o ácido araquidônico, a partir da ativação da enzima fosfolipase A₂, e estes por sua vez serão precursores de vários eicosanóides (Figura 7) (YEDGAR; LICHTENBERG; SCHNITZER, 2000). O ácido araquidônico livre é então metabolizado

por duas enzimas, a isoforma COX-1 que é constitutiva e a COX-2 que é indutível e ambas estão envolvidas na inflamação, sendo então o ácido araquidônico transformado em PG_2 e subseqüentemente em PGH_2 , que é finalmente convertido por sintases específicas em PGs como D₂, E₂, F₂ e I₂, assim como tromboxano (TX). Além da biossíntese de PGs e TX, também se inicia a biossíntese de leucotrienos (LT) feito pelas lipooxigenases (LOXs) (MANCINI e cols., 2001; TANIKAWA e cols., 2002).

Segundo Chandrasekharan e cols., (2002), temos ainda uma terceira isoforma da COX, a COX-3, que é indutível como a COX-2 e está envolvida na febre e inflamação e se apresenta de forma constitutiva no SNC.

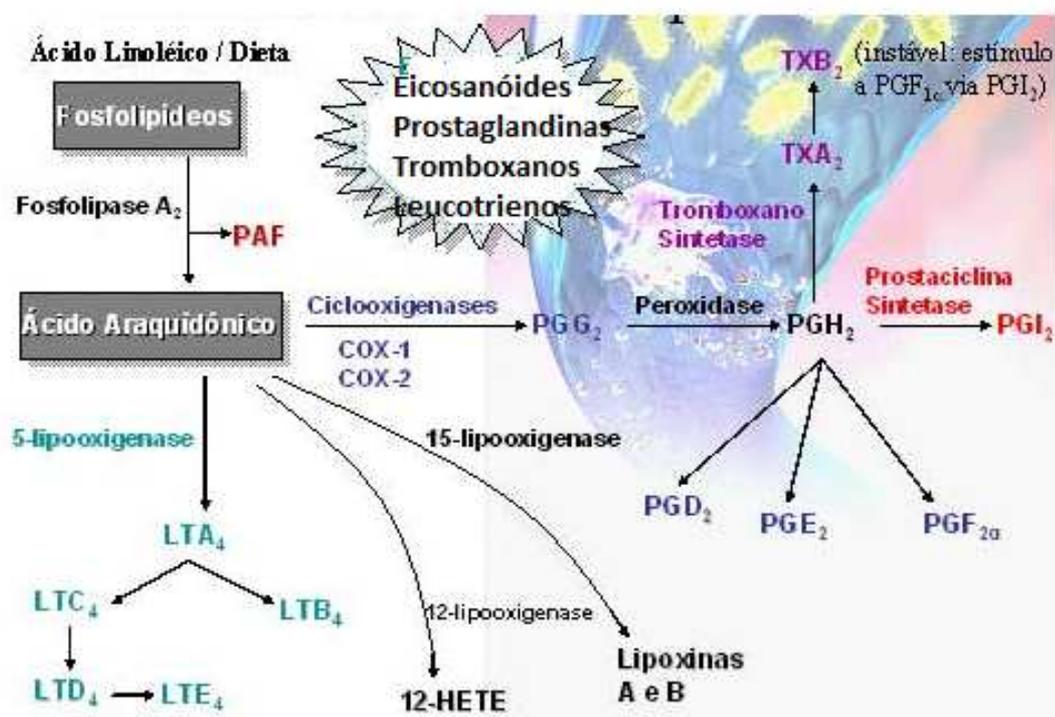


Figura 7. Principais metabólitos envolvidos na cascata do ácido araquidônico. Figura retirada de <http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=11&materia_id=251&materiaver=1> visitado em 10 de janeiro de 2010.

Os efeitos biológicos das PGs são mediados por dez tipos diferentes de receptores, acoplados a proteína G (BREYER e cols., 2001).

As prostanóides, PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ (prostaciclina) e TXA₂, são os mais importantes na inflamação. A PGI₂ produzida na parede vascular, possui ação vasodilatadora, além de potencializar os efeitos quimiotáticos e aumentar a permeabilidade de outros mediadores (KAM; SEE, 2000). As PGE₂, PGD₂, PGF_{2α} também são vasodilatadoras, mas possuem outras ações. As PGE₂, tem ação citoprotetora da mucosa gástrica, aumenta a atividade álgica da BK, estimula a produção de esteróides pela supra-renal, liberando corticóides que participam da inflamação (CIRINO, 1998).

Os LT provém da metabolização do eicosanóide 5-hidroxi-peroxieicosatetraenóico (5-HpETE), que são formados pela oxidação enzimática do ácido araquidônico onde envolve a inserção do oxigênio molecular no carbono 5 onde é catalizada pela enzima 5-lipooxigenase (HEVKO; MURPHY, 2001). O LT A4 é transformado em LTB4 através da LTA4 hidrolase que catalisa a adição de água no LTA4. O LTB4 é o principal leucotrieno envolvido no processo inflamatório. Tem potente atividade quimiotática para leucócitos, eosinófilos e monócitos e promove a migração destes tipos celulares para o local afetado. O LT também é precursor de uma importante classe de LTs contendo cisteinil, LTC4, D4 e E4, também chamados de (Cys-Lts), onde atuam no aumento da permeabilidade vascular (BELCH; HILL, 2000).

Os receptores para esses leucotrienos (Cys-LT1), são encontrados nas células do músculo liso aéreo e células endoteliais vasculares e os receptores (Cys-LT2) são encontrados nas veias pulmonares, baço e fibras de Purkinje no coração, mas sua função ainda não é conhecida (GONZÁLEZ-PÉRIZ; CLÀRIA, 2007).

d) Óxido Nítrico (NO[•])

Radical livre, gasoso, inorgânico e incolor que até a década de 1980 era tido como um poluente ambiental com carcinógenos potenciais (JAMES, 1995). É produzido principalmente pelas células endoteliais do tecido lesionado, com potente ação vasodilatadora, levando a um aumento da permeabilidade vascular.

Sua síntese resultada da oxidação de um ou dois nitrogênios guaninos da L-arginina, que é convertida em L-citrulina. A NO-sintase catalisa essa reação (MARLETTA e cols., 1988; NICHOLSON e cols., 1996).

A NOS é encontrada em três isoformas, sendo duas isoformas constitutivas e uma indutível. A NOS constitutiva (c-NOS), é dependente de íons cálcio (Ca^{++}) e de calmodulina, e estão presentes em condições fisiológicas no endotélio (e-NOS) e em neurônios (n-NOS). Porém a e-NOS não é restrita ao endotélio também pode-se encontrar em células mesaginais renais, osteoblastos e osteoclastos, epitélio respiratório e em pequenas quantidades, nas plaquetas. A NOS indutível (i-NOS), é expressa em macrófagos e outras células ativadas por citocinas, em resposta a estímulos patológicos, como microorganismos invasores dentre outros. (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). Além disso, o NO^- atua como regulador do recrutamento de leucócitos e exerce ação citotóxica contra micro-organismos.

Segundo Roriyabe (2004), a NO^- ativa a COX-1 na fase inicial de inflamação induzida por Cg e regula COX-2 na fase tardia na pele, resultando na produção de PGE2 e PGI2 no local da inflamação, que contribuem para a exacerbação do processo inflamatório. Acredita-se que este efeito do NO^- é devido à sua capacidade de ativar a enzima COX por um mecanismo ainda não elucidado (COUTINHO e cols., 2009).

e) Citocinas

As citocinas são polipeptídeos que exercem seus efeitos em baixas concentrações, modulando a função de outras células ou da própria célula que as liberaram, sendo estas produzidas principalmente por macrófagos e linfócitos. As citocinas são liberadas durante as reações imunes e inflamatórias, com a função de regular a ação das células destes sistemas (OPAL; DEPALO, 2000).

Podemos encontrar na fase inicial da resposta inflamatória citocinas como o fator de necrose tumoral (TNF α) e a IL-1 (MATSUKAWA; YOSHINAGA, 1999) que induzem respostas sistêmicas de fase aguda gerando hipertermia, principalmente IL4 e IL6, também podemos encontrar as citocinas quimioatraentes (quimiocinas), do tipo C-X-C do qual o principal exemplo é a IL-8 onde está envolvida predominantemente nas respostas inflamatórias agudas e as C-C (como principais exemplos a MCP-1) que atuam sobre monócitos e outras células e estão envolvidas nas respostas inflamatórias

crônicas. Todas essas citocinas favorecem a aderência leucocitária ao endotélio, aumentam a síntese de prostaciclina e desencadeiam uma cascata de citocinas secundárias, dentre outras ações.

Outras citocinas antiinflamatórias incluem a IL-3,-4,-5,-6 e IL-10, onde agem limitando a produção de prostaglandinas e a hiperalgesia produzida pelo TNF α (DWORSKI; SHELLER, 1997; OPAL; DEPALO, 2000; GERARD; ROLLINS, 2001).

f) Fator de ativação plaquetária: PAF

Esse fator é ativado quando há liberação de histamina, trombinas e LTB₄, sendo sintetizado a partir de fosfolipídeos de membrana por ativação de fosfolipases (PLA₂) (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004). Sendo assim, o PAF é um fosfolipídeo que regula a liberação de citocinas amplificando a resposta inflamatória, aumenta a permeabilidade vascular por contração das células endoteliais, estimula a agregação plaquetária além de estimular as enzimas lisossômicas para produção de superóxidos. (KILGORE; WARD; WARREN, 2000; TIEMANN e cols., 2001).

g) Sistema complemento

Este sistema é constituído por uma série de proteínas de membrana plasmática que participam de defesas inatas (natural) e adquiridas (memória), sendo esta última geralmente ativada por microorganismos que promovem a inflamação e destruição destes microorganismos. Anticorpos IgM ou IgG, que encontram-se fixados a superfície dos microorganismos ou outras estruturas ativam essa via. É chamada de sistema complemento pois foi a primeira a ser definida, através da fixação ao componente C3 do complemento (CLEMENZA; DIELE; CICARDI, 2003). Os componentes do sistema complemento estão no plasma de forma inativa, quando ocorre a ativação do complemento C3, inicia-se as funções biológicas do organismo. Essa ativação resulta de um série de condições patológicas como doenças auto-imunes, ataque microbiano e enzimas proteolíticas presente no exsudato inflamatório (MONSINJON e cols., 2001).

A via alternativa é ativada a partir da hidrólise espontânea tiol-éster localizada na cadeia alfa do componente C3, por moléculas da superfície do microorganismo que se ligam ao componente C3 do complemento e serve como plataforma para a ativação de outras proteínas complementares.

Já a via da lectina utiliza uma proteína para ativar a cascata do complemento, a lectina ligadora de manose (MBL), que interage com glicoproteínas e glicolipídeos microbianos (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

A clivagem do fator C3, gera dois fragmentos C3A e C3B, onde o C3a funciona como um quimioatraente e o C3b se gruda a superfície dos microorganismos facilitando seu reconhecimento pelos fagócitos e promovendo a fagocitose (FISHELSON, 1991). O C3B forma a C5 convertase que interagem com a C5 e forma C5a e C5B, onde o C5a é fator quimiotático para neutrófilos e C5B, se fixa na superfície dos microorganismos, muito similar ao C3B, facilitando o complexo de membrana de ataque composto por outros fatores como C6, C7, C8 e C9, o que leva ao rompimento da célula microbiana, ocasionando morte (PANGBURN; RAWAL, 2002; COLE; MORGAN, 2003)

h) Sistema de coagulação

Processo pelo qual o sangue forma coágulos sólidos, e este sistema é ativado durante lesão tecidual ou durante infecções. Se apresenta em duas vias intrínseca (via da ativação de contato que é ativada por trauma tecidual direto) e extrínseca (via do fator tissular que é iniciada por produção de fator tecidual) que convergem e em última instância causando ativação da trombina com subsequente clivagem do fibrinogênio em fibrina (BRUNNEE; LA PORTA; REDDIGARI, 1993; RIEWALD; RUF, 2003).

As plaquetas quando ativadas, essas liberam produtos de oxidação do ácido araquidônico pela via COX (PGH₂ e TX), PAF, TNF- α , IL-1, IL-6, proteína C reativa e monócitos ativados que produzem fator tecidual. A presença do fator tecidual causa ativação do fator VII que então forma um complexo que em última instância causa formação de trombina (CARRAWAY; WELTY-WOLF; MILLER, 2003). Os fatores de coagulação geralmente são enzimas (serino proteases) com exceção dos fatores V e VIII que são glicoproteínas e do fator XIII que é uma transglutaminase. As serino proteases agem clivando outras proteínas.

i) Sistema cininas

Em 1949, Rocha e Silva e colaboradores relataram a existência de uma nova substância relaxante, liberados no plasma pela ação do veneno da serpente *Bothrops*

jararaca ou por tripsina, que chamaram a bradicinina (BK) (ROCHA-SILVA; BERALDO; ROSENFELD, 1949). As cininas são oligopeptídeos sintetizados no plasma intersticial a partir de proteínas de elevado peso molecular, estão envolvidas em uma série de eventos biológicos, como vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, modulação da dor, contração/relaxamento da musculatura lisa e efeitos na proliferação celular, além disso, acredita-se que as cininas também estão envolvidas na maioria dos estados patológicos da inflamação tais como asma, alergia, artrite reumatóide, choque endotóxico e pancreatite (REGOLI; BARABE, 1980; BHOOLA; FIGUEROA; WORTHY, 1992; HALL; MORTON, 1997).

As cininas (BK, calidina e Met-Lys-bradicinina) são sintetizadas a partir da ativação de cininogênios de alto e baixo peso molecular, pela ação das calicreínas, tanto no plasma como nos tecidos periféricos. As calicreínas, sintetizadas na forma de pré-calicreínas, são ativadas pelo fator de Hageman (fator XII) em situações de lesão tecidual. A ativação do fator de Hageman resulta na estimulação de diversas enzimas proteolíticas e no conseqüente desencadeamento de uma série de eventos bioquímicos, entre os quais a coagulação sangüínea, a fibrinólise, o sistema complemento e o sistema calicreína-cininas. Uma vez liberadas esses peptídeos são rapidamente degradados por enzimas cininases I e II e aminopeptidase (BHOOLA e cols., 1992).

Os principais efeitos das cininas são mediados por ativação de dois receptores chamados de B1 e B2, onde o receptor B2 é expresso constitutivamente na superfície celular (células endoteliais, músculo liso, células epiteliais, fibroblastos, células neuronais e células dendríticas) e o receptor B1 só é expresso após danos tecidulares ou após produção da IL-1 e terá papel principal na dor crônica. A sua ação a nível dos vasos é devida em parte à produção de PGEs e NO⁻ que desencadeia.

3.3. Tratamento farmacológico da dor e inflamação

Uma vez que a dor e a inflamação são processos biológicos nos quais muitos mediadores co-participam, e que o aparecimento da segunda (inflamação) incide na manifestação da primeira (dor), muitos medicamentos analgésicos também exibem propriedade antiinflamatória.

Segundo Vale (2007), o tratamento da dor deve-se seguir a sua etiologia, pois a resposta aos diversos fármacos difere com o tipo de mecanismo que desencadeia o processo doloroso (VALE 2007).

No tratamento das dores são comumente utilizados:

1) Antiinflamatórios não esteroidais (AINEs): Os AINEs são os mais utilizados e são potente inibidores de ciclooxigenases (COXs), consequentemente inibindo a síntese dos endoperóxidos cíclicos e das prostaglandinas, sendo mais eficientes nas dores somáticas com componente inflamatório, possuem três principais efeitos, sendo eles efeito antiinflamatório, analgésico e antipirético (DANNHARDT; KIEFER, 2001).

A princípio havia duas formas distintas de COXs, denominada de COX-1, expressa nas respostas fisiológicas e COX -2 expressa nas respostas patológicas, porém foi descrita uma nova isoforma a COX-3, sendo esta alvo farmacológico da dipirona e do paracetamol (BOTTING, 2000). Possivelmente essa COX-3 é uma variante da COX-1 (pois é derivada do mesmo gene dessa isoforma), e se encontra distribuída no córtex cerebral, medula espinhal e coração, sendo mais sensível ao acetaminofeno do que a COX-1 e COX-2. Acredita-se que a inibição da COX-3 pode representar o mecanismo central primário pelo qual as drogas analgésicas e antipiréticas (AINE) desenvolveriam suas atividades de redução da dor e da febre (CHANDRASEKHARAN, 2002)

Os AINEs não só inibem a síntese de prostaglandinas, estes também atuam no SNC, ativando mecanismos inibitórios descendentes, consequentemente bloqueando as prostaglandinas (CALIXTO; CAMPOS, 2000; VANEGAS; SCHAIBLE, 2001).

Podemos encontrar os AINEs na forma de salicilatos (produtos naturais que contêm precursores do ácido salicílico, como a casca do salgueiro que contém o glicosídeo salicina e o óleo de cautéria que contém metilsalicilato). O ácido salicílico e o ácido acetil salicílico (aspirina) estão entre os primeiros fármacos a serem sintetizados e na atualidade e a aspirina é o fármaco mais comumente utilizado no mundo inteiro como agente antiinflamatório, analgésico e antipirético. Esses fármacos são relativamente seletivos para COX-1, assim como também a indometacina e piroxicam (CHANDRASEKHARAN, 2002).

Também podemos encontrar entre os AINEs o paracetamol (acetaminofeno), do

qual tem ação analgésica e antipirética, porém com fraco efeito antiinflamatório. Esse fármaco é menos seletivo para a COX-1, também podemos encontrar com essa menor seletividade o ibuprofeno. Outros exemplos de AINEs que são equi-potentes para ambas as enzimas são o naproxeno, flurbiprofeno, diclofenaco e nabumetona. O fármaco nimesulida é mais seletivo para a COX-2. (VANE; BOTTING, 1996).

2) Opióides: tem ação central, onde desencadeiam analgesia associada à depressão das funções neurovegetativas, são potentes analgésicos com característica sedativa e hipnótica, onde a dependência psíquica e física e a tolerância são fatores que limitam seu uso prolongado (GILBERT e cols., 2004). O mecanismo de ação ocorre via ligação dos agentes opióides com os receptores. Os receptores opióides pertencem a família dos receptores acoplados a proteína G, do qual todos inibem a adenilato ciclase, reduzindo assim o conteúdo intracelular de cAMP. Através desse mecanismo os opióides promovem a abertura dos canais de potássio e inibem a abertura dos canais de cálcio regulados por voltagem, que constituem os principais efeitos observados. São cinco tipos de receptores descritos porém o mu (μ), Kappa (κ) e delta (δ) são os mais importantes pois apresentam ligantes endógenos já identificados (JAN; VISCUSI, 2003).

Ainda segundo Jan e Viscusi (2003), as β -endorfinas se ligam aos receptores (μ), que a princípio são responsáveis pela ação analgésica supra-espinhais, as dinorfinas aos receptores (κ), que são responsáveis pela analgesia medular e sedação, e as encefalinas aos receptores (δ), sendo este receptor responsável pelas alucinações, estimulação respiratória e queda da dopamina cerebral. Esses ligantes são de extrema importância na modulação da dor (JAN; VISCUSI, 2003).

Na dor neuropática os opióides se mostram praticamente ineficazes, pois os neurônios já estão em estado bioquímico semelhante ao da tolerância ao opióides (FIELDS; BASBAUN, 1994; WOOLF; TRIVEDI, 2004).

3) Anestésicos locais: interferem no processo doloroso devido o bloqueio dos canais de sódio (Na^+) impedindo o potencial de ação, bloqueando a condução nervosa, são utilizados na dor aguda sob a forma de infiltrações locais (na área da injúria) ou

centrais (uso epidural ou subaracnóide) (MAO; CHEN, 2000).

Segundo Dirks e cols, (2000), os anestésicos locais são selecionados e classificados em agentes de curta duração de efeito (procaína e clorprocaína), duração intermediária (lidocaína, mepivacaína e prilocaína) e longa duração, tetracaína, ropivacaína, bupivacaína e etidocaína.

Alguns anestésicos locais, principalmente a lidocaína, são promissores no tratamento da dor neuropática, porém não tem efeito na dor aguda nociceptiva, mas apresenta limitada e seletiva ação na hiperalgesia secundária, principalmente na hiperalgesia térmica (DIRKS e cols., 2002).

4) Glicocorticóides

No tratamento dos processos inflamatórios são comumente utilizados: os AINEs (já acima citados), os agentes corticosteróides (glicocorticóides) e fármacos específicos que inibem a liberação de mediadores da inflamação ou antagonizam receptores desses mediadores (como os utilizados na artrite reumatóide e gota).

Os glicocorticóides possuem ação antiinflamatória, imunossupressora e antialérgica e atuam fazendo a transcrição gênica. Um mecanismo de ação ocorre entre o complexo hormônio-receptor e a inibição dos fatores de transcrição AP-1 (proteína de ativação 1 do complexo dos fatores de transcrição) e NFkB (fator nuclear Kappa-B) que regulam os genes da COX2 (MCKAY; CIDLOWSKI, 2000). Outra forma de mecanismo é a indução de Lipocortina-1 (membro da família das alexinas que são reguladas pelo cálcio). A lipocortina-1 é importante na retroalimentação negativa dos glicocorticóides sobre o hipotálamo e hipófise anterior e possui ações antiinflamatórias por inibir a fosfolipase A2 (RANG; DALE; RITTER, 2000).

Os glicocorticóides ainda podem exercer seus efeitos por vias não-genômicas, envolvendo sistema de segundos-mensageiros incluindo a proteína-quinase C, provavelmente esses efeitos resultam da existência de uma forma de receptor glicocorticóide de membrana citoplasmática originada por transcrição alternativa do gene do receptor glicocorticóide (LOSEL e cols., 2003).

Há um grande arsenal de fármacos disponíveis no mercado, porém todos trazem efeitos colaterais. Os efeitos colaterais e/ou adversos mais comuns dos AINEs são irritação no trato gastrointestinal, porém também são encontrados com uso prolongado

ou abusivo, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, fenômenos hemorrágicos, inibição da agregação plaquetária, dentro outros. Os opióides levam a confusão mental, náuseas, além de gerarem dependência psíquica e física, que são fatores que limitam seu uso prolongado (GILBERT e cols., 2008).

Com os glicocorticóides são observados principalmente com o uso sistêmico prolongado supressão da resposta à infecção ou lesão, supressão da síntese de glicocorticóides endógenos, alterações neuropsíquicas (euforia, insônia, depressão), hipertensão arterial, diabetes mellitus, síndrome de Cushing (caracterizada pelo aumento da gordura abdominal, face de lua cheia, equimoses, fraqueza muscular e hiperglicemia entre outros), dentre outros. Os glicocorticóides podem ainda provocar a Osteoporose porque inibem o crescimento e função dos osteoblastos, diminuindo a absorção do cálcio intestinal, e, aumentando a excreção do cálcio renal (ANTI; GIORGI; CHAHADE, 2008).

5) Adjuvantes: os adjuvantes compreendem ao grupo de fármacos não classificados farmacologicamente como analgésicos mas que são empregados para tratar sintomas que acompanham as síndromes dolorosas ou para tratar os efeitos colaterais dos analgésicos empregados. Os mais comuns usados na clínica são os ansiolíticos, hipnóticos, neurolépticos, relaxantes musculares de ação central, antidepressivos, bloqueadores de glutamato, dentre outros (OLIVEIRA; TORRES, 2003).

Recentemente uma nova terapia surgiu para tratamento da dor crônica, seria os derivados da *cannabis sativa* (C.sativa), os canabinóides, que tem como princípio ativo delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC). Em estudos pré-clínicos alguns destes canabinóides, se revelaram bloqueadores da dor nos modelos testados, onde demonstraram um aumento da expressão dos receptores CB1 no tálamo contralateral após modelo de dor neuropática, o que poderia explicar a eficácia analgésica dos canabinóides em casos crônicos (BONFÁ e cols., 2008). Porém o seu uso no Brasil, não é liberado, mas em diferentes países esses derivados canabinóides estão disponível comercialmente em várias apresentações (OLIVEIRA 2003).

3.4 Importância das plantas medicinais com propriedades analgésica e antiinflamatória

É longo o caminho da pesquisa para originar medicamentos a partir de plantas medicinais. A trajetória inicia-se desde a seleção da planta até a comercialização do produto final.

As plantas medicinais com propriedade analgésica vêm colaborando no tratamento de processos patológicos nos quais a dor está presente. Vários estudos realizados nos nossos laboratórios especificadamente, cientificaram a ação analgésica e antiinflamatória de algumas plantas medicinais através de vários modelos animais de dor.

No Brasil encontra-se a maior diversidade genética vegetal do mundo, com um total estimado entre 350.000 e 550.000 espécies, das quais apenas 55.000 estão catalogadas (SIMÕES e cols., 2004). O estudo científico sobre a atividade analgésica e antiinflamatória de plantas brasileiras é antigo, mas começaram a ser citados apenas a partir da década de 90.

O uso de plantas contra o processo inflamatório e doloroso ainda ocorre de forma empírica. Diante disso, vários grupos de pesquisas brasileiros vêm se dedicando ao estudo antiinflamatório e já se conseguiu o lançamento de um produto no mercado, obtido a partir da *Cordia verbenacea*, conhecido como Acheflan®.

As plantas investigadas foram selecionadas levando-se em consideração fatores fundamentais, como indicações ou recomendações populares com finalidades terapêuticas e a abundância da mesma. Somente em nossos laboratórios segundo Cechinel, (2000), foram validadas as propriedades farmacológicas de: *Marrubium vulgare* L.; *Bauhinia splendens*.; *Aleurites moluccana* L.; *Wedelia paludosa* D.C.; *Rheedia gardneriana* P.I.; *Epidendrum mosenii*; *Sebastiania schottiana*., *Rubus imperialis* Chum, além de *Calophyllum brasiliense* leaves (DA SILVA e cols., 2001), *Hyeronima alchorneoides* (KUROSHIMA e cols., 2005), *Curcuma zedoaria* (NAVARRO e cols., 2006), *Maytenus robusta* (NIERO e cols., 2006), *Plinia glomerata*, (FISCHER e cols., 2008).

Apesar da validação primária, muitos testes com estas plantas ainda são feitos

para verificar a existência de outras ações farmacológicas.

Dentre os estudos recentes com plantas de atividade analgésica e antiinflamatória podemos citar: Velutinol A, um composto isolado obtido da fração acetato de etila de *Mandevilla velutina*, que reduziu parcialmente o edema de pata de rato induzido por CG. Contudo falhou em afetar o edema induzido por His, SP, PAF ou BK. Sugeriu-se que este composto age como potencial antagonista não peptídico seletivo dos receptores B1 para cininas (MATTOS e cols., 2006).

Estudos recentes de Silva e cols., (2008), investigaram o efeito do extrato etanólico das folhas de *Conocliniopsis prasiifolia* King & H. Robinson (EECp), frente à degranulação de neutrófilos, e dessa forma melhor caracterizar o efeito antiinflamatório dessa espécie vegetal. Para tanto, foram utilizados neutrófilos peritoneais de ratos e técnicas espectrofotométricas. Os resultados demonstraram que EECp, inibiu de forma significativa a degranulação de neutrófilos. Portanto, o EECp impede a liberação de grânulos dos neutrófilos contendo enzimas degradativas, demonstrando atividade antiinflamatória.

Também investigaram as propriedades antinociceptiva, antiinflamatória e antiulcerogênica do extrato etanólico dos galhos de *E. erythropappus*, em três concentrações de doses. Foram realizados os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético; tempo da lambida da pata induzida por formalina; placa quente; edema de pata induzido por carragenina; lesões ulcerativas induzidas por indometacina e etanol. Os resultados mostraram que o extrato etanólico inibiu as contorções abdominais, assim como o tempo da lambida da pata, em ambas as fases da formalina, nas três doses e aumentou o tempo de latência na placa quente na dose de 200 mg/Kg. O edema de pata foi reduzido em 23,81% (100 mg/kg) e 47,62% (200 mg/kg). O índice ulcerativo das lesões induzidas por indometacina foi reduzido na dose de 100 mg/kg e 200 mg/kg, enquanto a dose de 200 mg/kg teve efeito significativo sobre o volume e o pH do suco gástrico. Os resultados indicam que o extrato etanólico de *E. erythropappus* avaliado pode constituir alvo potencial para uso em terapias da dor, da inflamação e de úlcera (SILVA e cols., 2008)

Assim como pesquisaram, a atividade antinociceptiva e o perfil fitoquímico dos extratos aquosos e metanólico produzidos com a casca do caule de *Abarema*

cochliacarpus. Todos os extratos apresentaram atividade analgésica quando avaliados pelo teste das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético via i.p.e, e comparados com as drogas usadas como referência, bem como no modelo da dor induzida por capsaicina. A avaliação fitoquímica demonstrou a presença de saponinas, catequinas, taninos, fenóis e antraquinonas (SILVA e cols., 2009).

Oliveira e cols., (2009), pesquisaram o efeito antiinflamatório do extrato aquoso da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl., Bignoniaceae, popularmente conhecida como "crajiru", sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus*. O estudo mostrou que na análise histopatológica, o infiltrado de granulócitos e a miocitólise foram os efeitos inflamatórios inibidos mais significativamente. Os resultados sugerem a presença no extrato aquoso de *A. chica* de substâncias com atividade inibitória sobre os efeitos inflamatórios dos venenos das serpentes *Bothrops atrox* e *Crotalus durissus ruruima*.

3.5 Da planta em estudo

3.5.1 *Litchi chinenses* soon

A *Litchi chinenses* soon (Figuras 8 e 9), ou simplesmente Litchia, é uma planta originária da China. Considerada como a rainha das frutas pelo seu sabor e aroma delicados. Pertence à família Sapindaceae, que tem representantes importantes no Brasil, como o guaraná (*Paulinia cupana*) e a pitomba (*Talisia esculenta*). Pode atingir de 10 a 12 metros de altura e tem tendência a desenvolver ramos direcionados para o solo. O fruto é uma drupa de forma e tamanho variáveis, de coloração vermelha. No Brasil, as espécies mais plantadas são a 'Bengal' e 'Brewster'. A cultura, atualmente, está concentrada no Estado de São Paulo, sul de Minas Gerais e norte do Paraná, onde a colheita se dá, comumente em fins de outubro a início de fevereiro (MARTINS, 2005).

Os frutos apresentam-se em cachos, a casca é rugosa, de cor vermelha e fácil de ser destacada. A polpa é gelatinosa, translúcida sucosa e de excelente sabor, lembrando ao de uva Itália e não é aderente ao caroço. Além de seu uso principal como fruta fresca, a Lichia pode ser utilizada em temperos, molhos, conservas, vinhos,

geléias, sucos, musses e sorvetes. Já a lichia seca, tipo passa, pode ser utilizada em chás, como adoçantes (CARVALHO; CUNHA; RODRIGUES, 2005).

Sabe-se que o suco da fruta é indicado para combater febres passageiras, alivia a tosse, problemas no fígado e estômago. É um bom antiinflamatório e é indicada em casos de polidipsia, soluços, dores de dente, hemorragias externas, hérnias, e tratar certos problemas com as glândulas. Enquanto a semente e a casca da raiz são utilizados no tratamento de hérnias e inchaço. As sementes também têm um efeito analgésico como as flores, acalmando dores de garganta (MARTINS 2005).



Figura 8. Frutos de *Litchi chinenses* soon. Disponível [http: <www. commons.wikimedia.org>](http://www.commonswikimedia.org) Acessado em 01.12.2009



Figura 9. Partes aéreas de *Litchi chinenses* soon. Disponível [http:<www.vivairosariotramontana.it/en/fruttiferi>](http://www.vivairosariotramontana.it/en/fruttiferi) Acessado em 01.12.2009

3.5.2 Constituintes químicos e atividade farmacológica

São poucos os dados na literatura encontrados referente aos constituintes químicos da planta em estudo. Chyaua e cols., (2003), avaliaram os compostos voláteis do suco fresco da planta em estudo e identificaram no total 25 compostos em ambas as frações (glicosídeos livres e compostos voláteis vinculados), incluindo um éster, 14 alcoóis, dois aldeídos, quatro ácidos, duas cetonas e dois terpenos. Na fração livre os principais compostos voláteis encontrados foram a acetoína (30,1%), geraniol (15,6%), 3-metil-2-buten-1-ol (15,3%), ácido octanóico, 28%), 2-feniletanol (4,91%), cis-ocimene (4,32%) e ácido butírico (3,40%).

Mais recente fora a identificação de diferentes tipos de polissacarídeos no pericarpo desta planta (YANG e cols., 2006), identificação de alguns flavonóides e antocianinas também no pericarpo (LI, J; JIANG, Y, 2007) e a identificação de compostos fenólicos (LIU e cols., 2007).

Com relação às propriedades farmacológicas já comprovadas cientificamente pouca coisa se encontra na literatura. Com relação às propriedades antiinflamatória e analgésica, Besra; Sharma e Gomes (1996), demonstraram que o extrato hexano das folhas da planta *Litchi chinenses* soon, foi eficaz em reduzir os processos inflamatório e antinociceptivo em camundongos através do modelo de edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina e ácido araquidônico, edema de orelha induzido por óleo de cróton e teste das contorções abdominais induzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético. Porém os resultados mostraram-se bastante preliminares. Também neste mesmo artigo foi descrito o efeito antipirético do extrato hexano das folhas desta planta.

Yang e cols., (2006), verificaram que diferentes frações de polissacarídeos obtidos do pericarpo da Litchi, exibiram forte atividade antioxidante. Uma fração polissacarídica foi purificada em coluna de filtração em gel e exibiu a maior atividade, quando comparada com a fração bruta . Em trabalho de Duan e col., (2007) também avaliaram a propriedade antioxidante da planta atribuindo aos produtos fenólicos encontrados no pericarpo dos frutos tal propriedade.

Zhao e cols., (2006) demonstraram que flavonóides obtidos dos frutos da planta exibem efeito imunomodulatório e antitumoral, confirmando os trabalhos de Wang e cols., (2006) os quais testaram o extrato LFP (pericarpo do fruto da Litchi) contra câncer de mama tanto em modelos “in vivo” quanto “in vitro”.

Feng e cols., (2007) verificaram que alcalóides obtidos da planta exibiram a propriedade antifúngica contra cepas de *streptovercilliuml morrokanse*.

Diante do exposto, o presente trabalho se propôs a aprofundar os estudos anteriores referentes às propriedades farmacológicas desta planta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Análise fitoquímica

Os experimentos fitoquímicos, incluindo a preparação do extrato metanólico bruto (EMB), frações, isolamento e caracterização da substância pura procianidina B2 (PB2) obtidos das folhas da planta *Litchi chinenses* soon, foram realizados no laboratório de fitoquímica, do curso de Farmácia, pertencente ao Centro de Educação em Ciências da Saúde (UNIVALI). Os experimentos foram orientados pela Prof^a. Dr^a. Cristiane S. Meyre Bitencourt e pelo acadêmico Rafael Vanolli.

4.1.1 Obtenção do EMB, frações e substância pura PB2

As folhas de *Litchi chinensis* Sonn., foram identificadas pelo Prof. Rene Arthur Ferreira, e coletadas no município de Itajaí-SC, sendo submetidos à secagem em estufa de circulação de ar na temperatura máxima de 35°C durante 3 dias. Após este período foram submetidas à trituração utilizando-se moinho de faca.

As folhas secas e trituradas de *L. chinensis* foram submetidas a procedimento extrativo utilizando metanol durante de 5 dias, após, o líquido extrator foi removido e submetido à evaporação do solvente utilizando evaporador rotativo sob pressão reduzida à temperatura máxima de 45°C até obtenção de resíduo seco. O extrato metanólico concentrado foi ressuspendido em mistura de etanol: água na proporção 7:3 e submetido ao fracionamento com partição líquido-líquido utilizando solventes de polaridade crescente como hexano (HEX), diclorometano (DCM) e acetato de etila (AcOEt). As frações obtidas foram submetidas ao evaporador rotatório sob pressão reduzida para a obtenção do resíduo seco.

As diferentes frações foram avaliadas quanto ao perfil cromatográfico desenvolvido na Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se diferentes sistemas de eluentes e reveladores de classe química para a escolha e direcionamento do procedimento de purificação. Considerando que a fração AcOEt exibiu um bom perfil cromatográfico esta foi submetida ao procedimento de purificação utilizando cromatografia em coluna ate a obtenção de substancias puras identificadas pelo

aparecimento de uma única mancha na CCD. Este procedimento possibilitou o isolamento de duas procianidinas identificadas como procianidina B2 e procianidina A2 através da comparação dos dados espectrais com os relatados na literatura (LIU e cols., 2007).

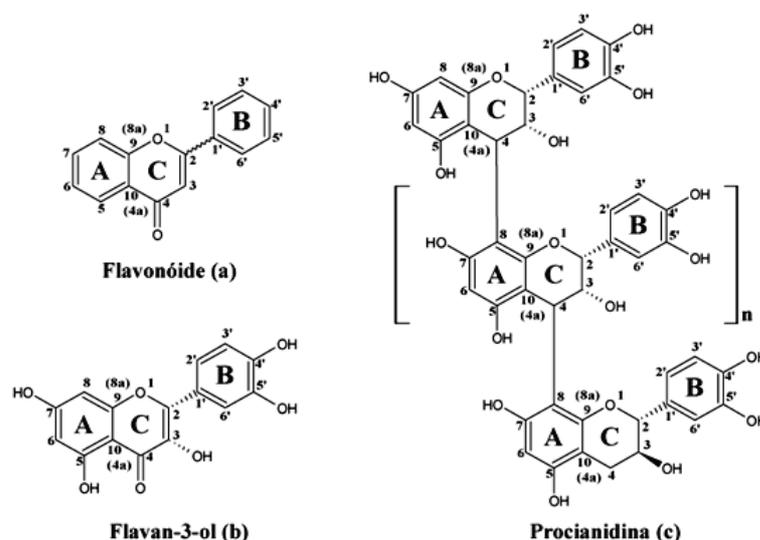


Figura 10. Estrutura da procianidina. Fórmulas estruturais. a) flavonóide genérico; b) flavan-3-ol; c) procianidina.

4.1.2 Drogas e soluções

As seguintes drogas e reagentes foram utilizados: bradicinina (BK), prostaglandina E₂, (PGE₂), captopril, carragenina (Cg), substância P (SP), histamina (His), CFA (completo adjuvante de Freund), dexametasona (DEX), capsaicina, glutamato, gabapentina, indometacina, (solução fisiológica estéril - NaCl 0,9%), solução tampão de fostato (PBS-pH 7,6, composição em mM: NaCl 137,0, KCl 2,0, sal fosfatado tamponado 10,0), solução de Turk e May-Grunwald Giemsa todos obtidos da Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA e heparinaTM (Roche, Brasil).

As soluções estoque de todas as drogas utilizadas foram preparadas em PBS (1-10 mM) em tubos plásticos siliconados, mantidos a -20°C, diluídos na concentração adequada no momento de uso. As drogas foram preparadas diariamente em 0,9% p/v de solução de NaCl.

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos “Swis” machos, pesando entre (18±25g), criados e mantidos no biotério da Universidade do Vale do Itajaí. Os animais foram mantidos à temperatura de $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, em ciclo claro/escuro de 12 horas, com acesso a água e ração *ad libitum* e, mantidos no laboratório 24 horas antes da realização dos experimentos para aclimação. Os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas internacionais para o estudo com os animais de laboratório (ZIMERMANN, 1983), onde a intensidade dos estímulos nocivos e o número por experimentos foram mínimos e necessários para se obter resultado estatístico. O projeto foi submetido ao comitê de ética, onde adquiriu aprovação sob o número 291/08.

4.3 Testes Farmacológicos

4.3.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste de contorções abdominais em camundongos foi realizado de acordo com Koster; Andersons; Debber (1959). O EMB e a fração AcOEt obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (12,5,25,50,100 e 250 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2 nas doses de (3,6,10,30 e 60 mg/kg v.o), solução fisiológica estéril 0,9% (controle negativo v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes da aplicação do ácido acético intraperitoneal (i.p) (0,6%; 0,1 mL de solução/ 10g de animal). O número de contorções abdominais foi contado cumulativamente durante 20 minutos após este procedimento. A indometacina (10 mg/kg v.o) foi o fármaco de referência administrado uma hora antes da injeção de ácido acético.

4.3.2 Teste da formalina

O teste da formalina foi realizado de acordo com Dubuisson; Dennis, (1977). O EMB e a fração AcOEt obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (6; 12,5; 25; 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2 nas doses de (3; 6 e 10 mg/kg v.o), solução fisiológica estéril 0,9% (controle negativo v.o) e grupo controle

positivo indometacina (10 mg/Kg v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes da injeção intraplantar (i.pl) de formalina 2,5% (25 µL/pata). Imediatamente após a administração da formalina, o tempo em que o animal passou lambendo a pata injetada foi cronometrado em duas fases (0-5'; 1ª fase; dor neurogênica); (15-30'; 2ª fase; dor inflamatória), sendo considerado tempo zero o momento imediatamente após a administração da formalina.

4.3.3 Teste da placa quente

O teste da placa quente foi realizado de acordo com Anker, (1974). Os camundongos foram colocados sobre uma placa de alumínio aquecida a temperatura fixa ($55 \pm 0,5$ °C) e o tempo de latência a reação do calor foi avaliado utilizando como parâmetro o tempo(s) que cada animal gastou para retirar uma pata traseira da placa de alumínio, lambendo ou morder (tempo de latência) sendo este cronometrado.

Os animais foram selecionados 24hs antes do experimento e os que possuíam resposta curta e rápida ao estímulo doloroso foram selecionados para o teste. O EMB e a fração AcOEt, obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (25; 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2, na dose de (6 mg/kg v.o), solução fisiológica estéril 0,9% (controle negativo v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes da avaliação. O controle positivo morfina (5 mg/kg, s.c) foi administrada 30 minutos antes da medida do tempo de latência. Um subgrupo foi tratado com Naloxona (1 mg/Kg i.p, 30 minutos antes do experimento) + EMB (100 mg/Kg v.o, 1 hora antes do experimento) e outro sub grupo foi tratado com Naloxona (1 mg/Kg i.p) + Morfina (5 mg/Kg s.c), meia hora antes do experimento para ambos. Esse procedimento também foi realizado com a fração AcOEt (100 mg/Kg, v.o) e substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o). Com o objetivo de se evitar danos às patas dos animais foi estabelecido um tempo de corte de 30 segundos.

4.3.4 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de glutamato

Este teste foi realizado de acordo com Beirith e cols., (2002), com algumas modificações. O EMB e a fração AcOEt, obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (25; 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2, na dose de

(6 mg/kg v.o), solução fisiológica estéril 0,9% (controle negativo v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes da injeção de 20 µl de glutamato (20µmol/pata) dissolvido em salina, por via i.pl na pata traseira direita. Após a injeção do agente o tempo que cada animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada foi cronometrado durante 15 minutos e considerado como índice de nocicepção.

4.3.5 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de capsaicina

Este teste foi realizado de acordo com Sakurada e cols., (1996), com algumas modificações. O EMB e a fração AcOEt, obtidos das folhas de Litchi chinenses soon, nas doses de (25; 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2, na dose de (6 mg/kg v.o), solução fisiológica estéril 0,9% (controle negativo v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes da injeção de 20 µl de solução de capsaicina (1,6 µg/pata) por via i.pl na pata posterior direita, sendo que o tempo que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada com o agente irritante foi cronometrado por 5 minutos e considerado como índice de nocicepção.

4.3.6 Nocicepção induzida pela injeção intraplantar de CFA

Este teste foi realizado de acordo com Cao e cols., (1998) e Quintão e cols., (2005). Para induzir a resposta inflamatória, os animais receberam injeção i.pl de 20 mL de adjuvante completo de Freund (CFA; 1 mg/mL de bacilo de *Mycobacterium tuberculosis* inativado por calor; cada mililitro (mL) de veículo contém 0,85 mL de óleo de parafina + 0,15 mL monooleato de manida) na superfície plantar da pata direita traseira. A hipernocicepção mecânica foi avaliada através da técnica de filamento de Von Frey.

Para avaliar a hipernocicepção mecânica, os animais foram colocados individualmente em compartimentos de acrílico transparentes (9 X 7 X 11 cm), localizados em uma plataforma de arame elevada para permitir o acesso à superfície ventral das patas traseiras. Os animais foram aclimatizados por pelo menos 30 min. antes dos testes comportamentais. A frequência de resposta de retirada foi obtida através de 10 aplicações (duração de 1 s cada) do filamento de Von Frey 0,6 g. Os estímulos foram realizados na superfície plantar da pata traseira direita (QUINTÃO e

cols., 2005, 2006) objetivando determinar o limiar mecânico. Todos os grupos de animais foram submetidos à avaliação prévia e novamente re-avaliados em diferentes tempos após as injeções de CFA.

Para avaliar o efeito preventivo sobre a hipernocicepção mecânica, os animais foram previamente tratados com EMB nas doses de (25; 50 e 100 mg/kg, v.o.), fração AcOEt (25; 50 e 100 mg/Kg, v.o) e substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o), ou veículo (10 mL/kg,v.o.). Após 1 h de tratamento, os animais receberam uma injeção i.pl. de CFA, e a hipernocicepção mecânica foi avaliada em diferentes intervalos de tempos (1, 2, 3, 4, e 24 h). Foi utilizado como droga controle-positivo o anticonvulsivante gabapentina (70mg/kg, v.o.).

4.3.7 Modelo de pleurisia induzido por diferentes agentes flogísticos

Para indução experimental da pleurisia, o modelo foi realizado de acordo com Saleh; Calixto; Medeiros, (1997). Primeiramente, foi administrada por via endovenosa a solução de Azul de Evans (25 mg/kg, 0,2ml i.v) para posterior determinação indireta da exsudação na cavidade pleural. O EMB e a fração AcOEt, obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (25, 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2, na dose de (6 mg/kg, v.o) e controles (salina/salina, agente flogístico/salina e agente flogístico/indometacina (10 mg/Kg, v.o) foram administrados em grupos de dez animais, uma hora antes da administração na cavidade pleural direita (i.ple), através do espaço intercostal, 0,1 ml de salina (0,9%) Cg (1%).

Os demais agentes flogísticos foram utilizados apenas no experimento com o EMB nas doses de 25; 50 e 100 mg/Kg v.o, foram eles SP (20 nmol/cav), BK (10 nmol/cav) e His (100 µg/cav). Para administração do agente i.ple os animais foram levemente sedados com éter. Os parâmetros estudados foram a migração celular para a cavidade pleural e extravasamento de fluídos. Nos experimentos com BK, os animais foram pré-tratados 30 minutos antes com captopril (5 mg/Kg) para prevenir a degradação da BK pelas cininases (CAMPOS; CALIXTO, 1995).

Após 4 horas da injeção do agente flogístico na pleura, os animais foram sacrificados e a cavidade torácica foi aberta e lavada com 1 ml de PBS contendo heparina (20 UI/mL) (Os animais controle receberam o mesmo volume de PBS).

Alíquotas do lavado pleural foram coletadas para contagem total e diferencial da migração de células e determinação do vazamento de fluídos. A contagem de leucócitos totais foi realizada em câmara de Neubauer em microscópio óptico, após a diluição de 10 µl da amostra em 200 µl da solução de Turk. O esfregaço celular foi preparado com outra alíquota do lavado pleural.

As amostras foram coradas com May-Grunwald-Giemsa e a contagem diferencial de leucócitos foi determinada em microscópio com objetiva de imersão. O extravasamento de fluídos (exudato) foi medido através da fixação de azul de Evans (25 mg/kg, i.v.) à proteínas plasmáticas. A coloração do exudato foi estimada em colorímetro (Aparelho Elisa - espectrofotômetro Hitachi U2001, modelo 121-0031, USA) a 600 nm por interpolação com a curva padrão de Evans na faixa de 0,01-50 µg/mL (HENRIQUES, 1990).

4.3.8 Modelo de edema de pata induzida por diferentes agentes flogísticos

Para indução experimental do edema o modelo foi realizado de acordo com Winter; Risley; Nuss, (1962). O EMB e a fração AcOEt, obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, nas doses de (25; 50 e 100 mg/Kg v.o), assim como a substância pura PB2, na dose de (6 mg/kg v.o) e controles (agente flogístico/salina e agente flogístico/indometacina (10 mg/Kg, v.o) foram administrados em grupos de oito animais, uma hora antes do edema ser induzido pela injeção de 50µl de Cg (300 µg/pata), em salina estéril e administrada na região i.pl da pata direita dos camundongos. Na pata esquerda foi administrado 50µl de salina para controle.

O demais agentes flogísticos BK (3 nmol/pata), His (300 ug/pata) e SP (20 nmol/pata), foram utilizados somente para o EMB nas doses de (25, 50 e 100 mg/Kg). Indometacina foi utilizada como fármaco de referência em praticamente todos os agentes flogísticos, com exceção da Cg onde foi utilizado o fármaco dexametasona 0,5 mg/Kg 4 hs (s.c). Em intervalos de tempo específicos, conforme o agente flogístico utilizado (Cg – 30', 1,2,4,6 e 24 hs),(SP – 30', 60',90',120',150' e 180 minutos),(His – 15', 30', 45',60' e 120 minutos), (BK – 10', 20', 30', 60', e 120 minutos), foram feitas as leituras.

A medida do edema foi feita pela diferença entre os volumes deslocados da pata

direita e os da pata esquerda em $\mu\text{l/pata}$, utilizando-se um pletismômetro (modelo 7150, Ugo Basile). Os resultados foram apresentados em forma de tabelas, demonstrando a média e erros da diferença entre as patas quando comparados com o grupo controle que recebeu apenas o agente flogístico.

4.3.9 Verificação do desempenho motor dos animais: Modelo do Rota-Rod

Para verificação dos efeitos com o EMB, fração AcOEt e substância pura Pb2 obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, sobre a função motora dos animais, foi utilizado o Modelo de Rota-Rod (Rota Rod/RS, LE-8500, série 1218/06, Letica Scientific Instruments), de acordo com De Souza e cols., (2003). Este aparelho é constituído de uma barra de 2,5cm de diâmetro subdividida em seis compartimentos, colocada a 25 cm de altura e girando a 22rpm.

Os animais foram colocados na barra por 1 minuto, sendo registrado o tempo de permanência (em segundos), no máximo com três reconduções a barra. Este modelo foi feito com a dose de (100 mg/Kg v.o) para o EMB, fração AcOEt e a dose de (6 mg/Kg v.o) para a substância pura PB2, com a finalidade de verificar se alguns destes influenciavam no desempenho motor dos animais, salina foi utilizado como controle negativo e gabapentina (70 mg/Kg, v.o) como controle positivo.

4.4 Análise Estatística

As análises estatísticas dos resultados foram realizadas por meio de análise de variância pelo teste de múltipla comparação (ANOVA), utilizando-se o método de Dunnett, e método 2 vias Bonferroni, quando apropriado. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como indicativo de significância.

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média, exceto as DI_{50} (em alguns casos) (corresponde a doses das drogas que reduziram a resposta para 50% em relação ao grupo controle), que foram apresentados com as médias geométricas acompanhadas de seus respectivos limites de confiança em nível de 95%.”

4.5 Cálculos utilizados para obtenção das IMs (inibição máxima)

A média e a inibição máxima foram calculadas através do software (produzido no excel) conforme abaixo.

Os valores obtidos de cada animal (controle positivo/controlado negativo/pré-tratados) foram colocados na tabela 10 e automaticamente foi originado a média, desvio e erro. Após esse procedimento a média obtida do grupo controle positivo foi repassada para a tabela da IM, e o valor obtido de cada animal (grupo pré-tratado/controlado negativo) foram colocados no item (val.dose) onde automaticamente foi originado a IM obtida e a v A média e a inibição máxima foram calculadas através do software (produzido no excel) na Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

Os valores obtidos de cada animal (controle positivo/controlado negativo/pré-tratados) foram colocados em tabelas pertencentes ao software e automaticamente foi originado a média, desvio e erro. Após esse procedimento as médias obtidas dos grupos, foram repassadas para outra tabela e comparadas (grupo controle positivo/grupo pré-tratado) originando automaticamente a IM (Inibição máxima) e a variação.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

5.1.1 Teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético

Neste modelo o EMB reduziu significativamente nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, (** $p < 0,01$) as contorções abdominais induzidas por ácido acético quando comparados com o grupo controle (Figura 11). As inibições máximas (IMs) calculadas foram de $44 \pm 6\%$; $57 \pm 6\%$ e $65 \pm 10\%$ para as doses de 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente. O controle positivo indometacina (10 mg/kg) também reduziu de forma significativa (** $p < 0,01$), com IM de $96 \pm 1\%$ as contorções abdominais, como já esperado. A DI_{50} (dose que inibe 50% da resposta) calculada foi de 43,41 (29,94 - 62,95) mg/Kg.

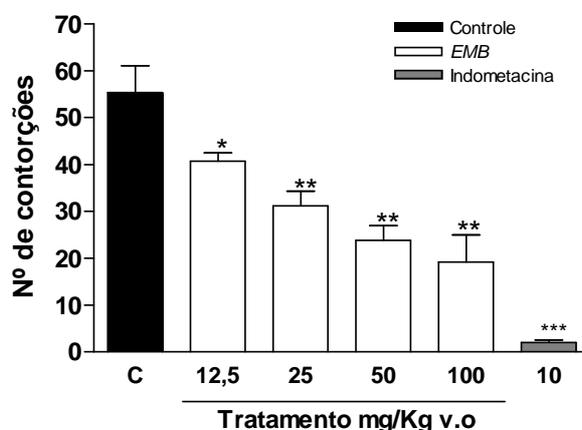


Figura 11. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (* $p < 0,05$); (** $p < 0,01$) e (***) $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Com a fração AcOEt observou-se também redução significativa no número de contorções abdominais dos animais. Entretanto, a dose de 100 mg/Kg foi a mais efetiva (Figura 12). As IMs calculadas foram de $37 \pm 9\%$; $53 \pm 5\%$; $64 \pm 4\%$ e $83 \pm 5\%$ para as

doses 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg, respectivamente. O controle positivo indometacina (10 mg/kg) obteve IM calculada de $96\pm 1\%$. A DI_{50} calculada para o experimento foi de 25 (20,13 – 31,84) mg/Kg.

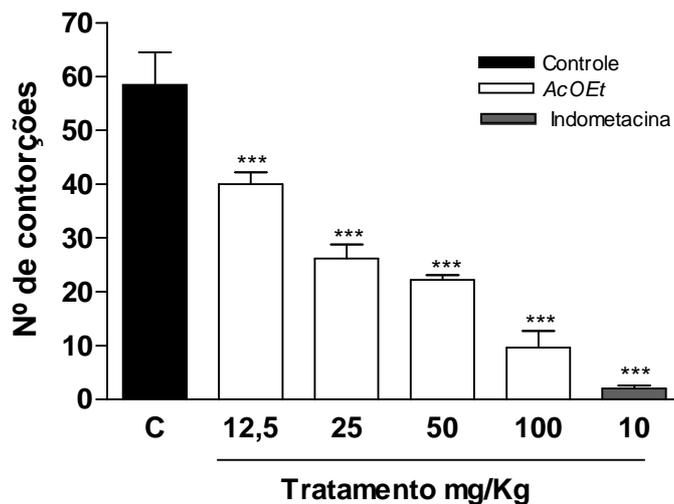


Figura 12. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (***) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

O tratamento dos animais com a substância pura PB2 não produziu resultados estatísticos significativos (Figura 13). No modelo do ácido acético somente se observou efeito antinociceptivo com o controle positivo, a indometacina com IM calculada de $96\pm 1\%$.

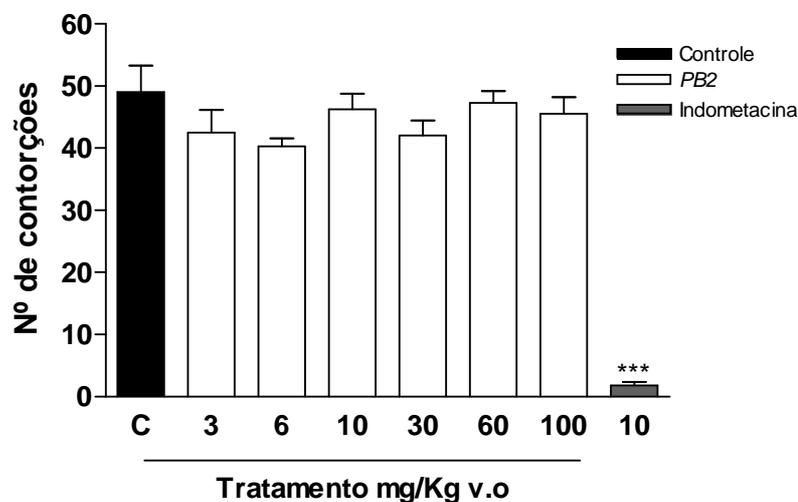


Figura 13. Efeito do PB2, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (3, 6, 10, 30, 60 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre o número de contorções abdominais induzidos por ácido acético (0,6%) em camundongos. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas; (***) $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

5.1.2 Teste da Formalina

Nas duas fases do teste da formalina (2,5%), o EMB nas doses de (12,5;25;50 e 100 mg/Kg) reduziram de maneira significativa o tempo de resposta dos animais à formalina. O EMB produziu de forma dose-dependente a inibição do processo doloroso induzido pelo agente irritante nas duas fases neurogênica e inflamatória com IMs calculadas de $57 \pm 8\%$ e $63 \pm 6\%$ respectivamente, na dose de 100 mg/Kg (Figura 14 A e B).

Na segunda fase do processo doloroso induzido pela formalina como esperado, a indometacina (10 mg/kg) inibiu de forma significativa com IM de $79 \pm 3\%$. As DI_{50} calculadas para o experimento foram de 48,06 (37,19 – 61,62) mg/Kg, para a 1ª fase e 57,94 (41,99 – 79,93) mg/Kg, para a 2ª fase.

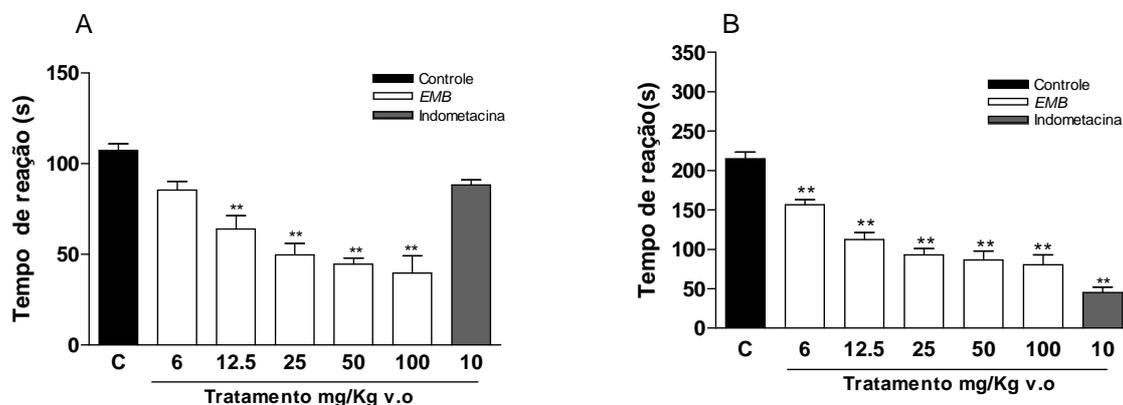


Figura 14. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (6, 12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), (A) na primeira fase neurogênica (0-5') e (B) na segunda fase crônica (15-30'), da algesia induzida por formalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Também nas duas fases do processo doloroso induzido por formalina o tratamento com a fração AcOEt, nas doses de (25; 50 e 100 mg/Kg, v.o), reduziram de maneira significativa o tempo de resposta dos animais ao agente irritante (Figura 15 A e B). A IM calculada na primeira fase (Figura 15A) foi de $68 \pm 2\%$ para a dose de 100 mg/Kg ficando a DI_{50} em 57,64 (49,76 – 66,77) mg/Kg. Na segunda fase (Figura 15B) obteve-se com a dose de 100 mg/Kg uma IM de $71 \pm 1\%$ e a DI_{50} calculada foi de 42,03 (35,40 – 49,91) mg/Kg. A IM calculada para a indometacina (10 mg/kg) foi de $83 \pm 2\%$.

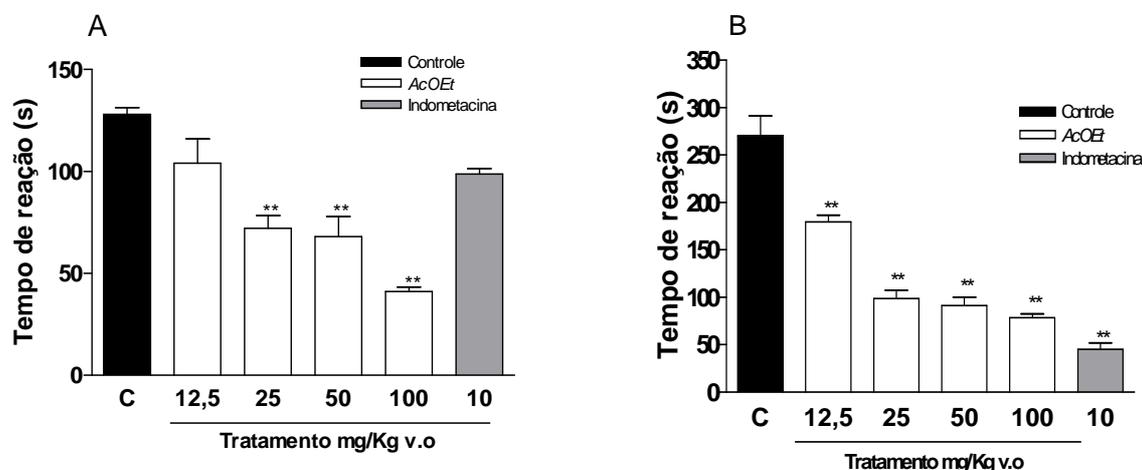


Figura 15. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (12,5, 25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o), (A) na primeira fase neurogênica (0-5') e (B) na segunda fase crônica (15-30'), da algia induzida por formalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Tanto na primeira, como na segunda fase do teste da formalina, houve redução da resposta álgica com o tratamento da substância pura PB2. A dose de 6 mg/Kg na 1ª fase foi a que apresentou a maior IM calculada em 41±5% (Figura 16A), e na segunda fase de 35±9% (Figura 16B).

O tratamento com indometacina também produziu inibição da dor inflamatória induzida por formalina com IM calculada de 75±2%.

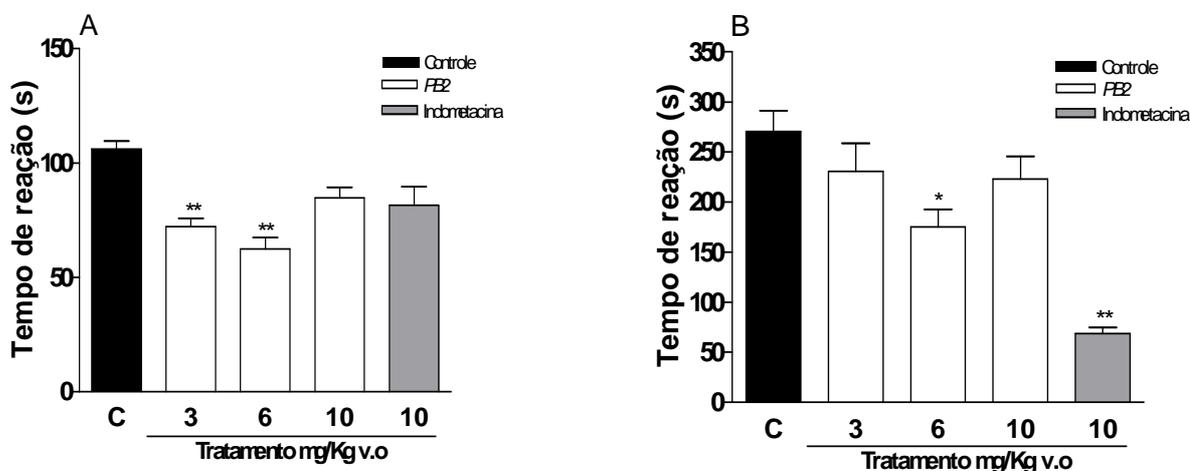


Figura 16. Efeito do PB2 (3, 6 e 10 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon e indometacina (10 mg/Kg, v.o), sobre a primeira (A) e segunda (B) fases do processo doloroso indzido por fomalina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) e (* $p < 0,05$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Foram realizados os mesmos testes acima (modelo ácido acético e formalina) com mais duas frações da planta, sendo a fração Diclorometano (DCM) e fração Hexano (HEX), porém não houve resposta farmacológica estatisticamente significativa com as mesmas como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Efeito das frações Diclorometano (DCM) e Hexano (HEX), obtidos de *Litchi chinenses* soon no modelo de ácido acético e formalina.

Tratamento	Ácido acético	Formalina 1ª fase	Formalina 2ª fase
	IM	IM	IM
Veículo	0%	0%	0%
DCM	8±1%	5±%1	6±2%
HEX	11±3%	7±2%	9±2%
Indometacina	--	Ne	79±3%

IM- inibição máxima
Ne- não efetivo

5.1.3 Teste da placa quente

No modelo da placa quente (Figura 17), o tratamento dos animais com o EMB obtido das folhas de *Litchi chinenses soon*, produziu aumento do limiar nociceptivo de camundongos expostos à placa quente, quando comparados ao controle, com IMs calculadas de $47\pm 8\%$ e $49\pm 8\%$ respectivamente para as doses de 50 e 100 mg/Kg. A morfina mostrou-se um analgésico mais eficaz e potente, aumentando também o limiar nociceptivo dos animais com IM de $73\pm 4\%$. No mesmo experimento a naloxona, um antagonista opióide não seletivo, não alterou o efeito antinociceptivo do EMB (100 mg/Kg), porém alterou o efeito antinociceptivo da morfina.

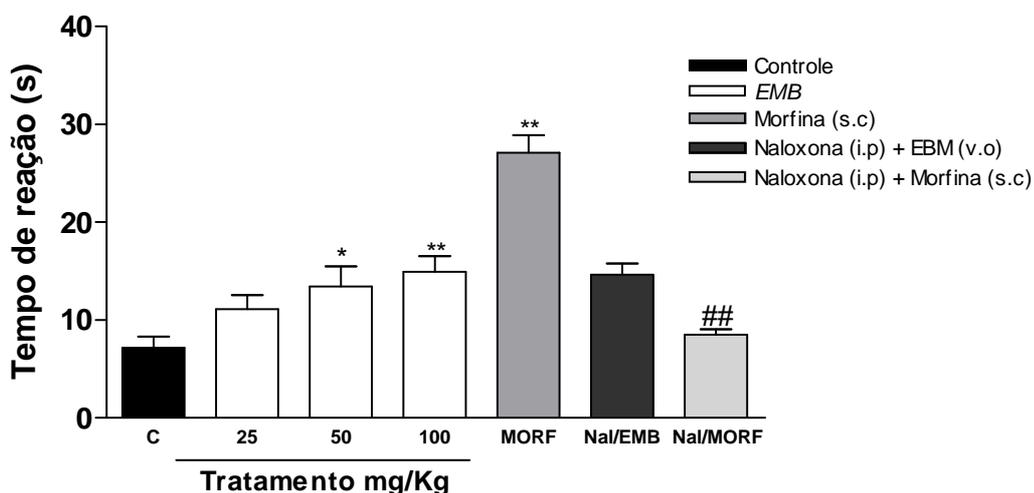


Figura 17. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses soon* (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + EMB (100 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + morfina (5 mg/Kg, s.c), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) e (* $p < 0,05$) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (** $p < 0,01$) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet.

A fração AcOEt (Figura 18), somente foi eficaz em aumentar o limiar nociceptivo dos animais, quando utilizou-se a dose de 100 mg/Kg, com IM calculada de $50\pm 2\%$. Da mesma forma o tratamento com morfina produziu efeito antinociceptivo no modelo inibindo o processo doloroso em $75\pm 1\%$. O pré-tratamento com naloxona neste teste

também não alterou o efeito antinociceptivo da fração AcOEt (100 mg/Kg), como ocorreu com a morfina.

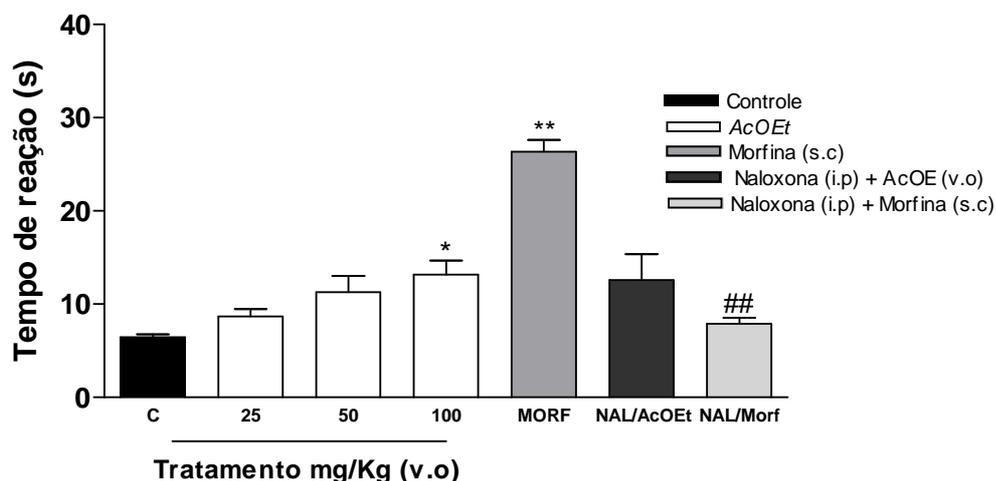


Figura 18. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + AcOEt (100 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + morfina (5 mg/Kg, s.c) sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) e (* $p < 0,05$) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (** $p < 0,001$) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet.

Na figura 19 observa-se que o tratamento dos animais com a substância pura PB2 (6 mg/Kg) e morfina, produziu aumento do limiar nociceptivo com IMs calculadas de $43 \pm 9\%$ e $74 \pm 4\%$ respectivamente. Porém essa resposta não foi revertida pelo tratamento com a naloxona, como foi observado no grupo que recebeu morfina.

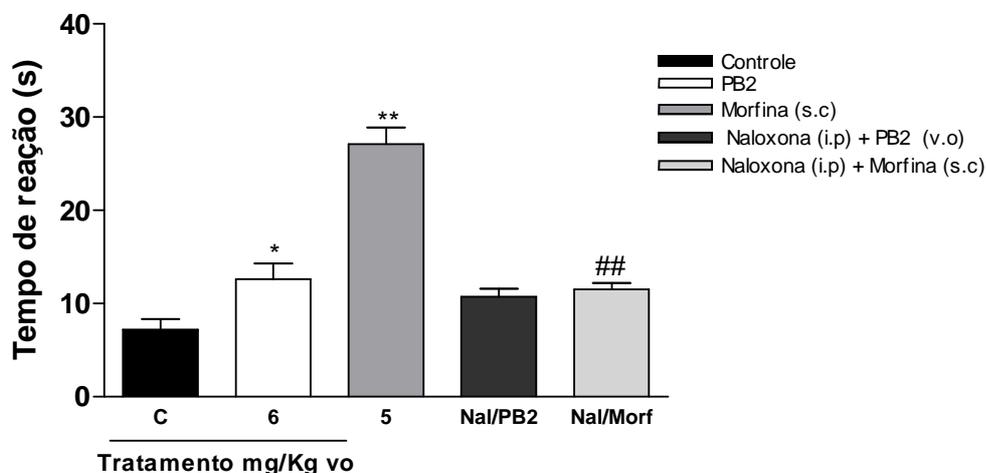


Figura 19. Efeito do PB2, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (6 mg/Kg, v.o), morfina (5 mg/Kg, s.c), Naloxona (1 mg/Kg, i.p) + PB2 (6 mg/Kg, v.o) e Naloxona (1 mg/Kg i.p) + Morfina (5 mg/Kg, s.c), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste de placa quente. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) e (* $p < 0,05$) quando comparados com controle, ## denota significância estatística (** $p < 0,01$) quando comparado com morfina. ANOVA, Dunnet.

5.1.4 Nociceção induzida pela injeção intraplantar de glutamato

No modelo de dor induzida por glutamato (Figura 20), todas as doses do EMB (25; 50 e 100 mg/kg) produziram efeito antinociceptivo nos animais com perfil farmacológico de dose-dependência. As IMs calculadas foram de $32 \pm 4\%$; $63 \pm 4\%$ e $67 \pm 3\%$ respectivamente e a DI_{50} calculada para esse experimento foi de 48,85 (31,89 – 74,83) mg/Kg.

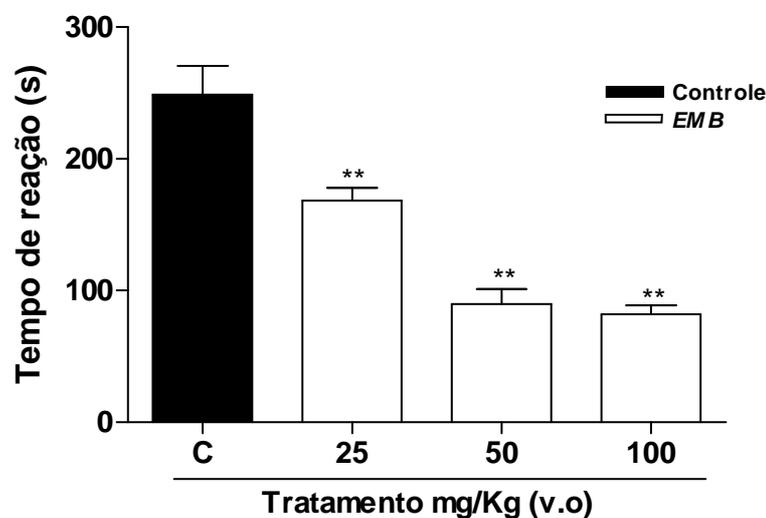


Figura 20. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

O pré-tratamento dos animais com a fração AcOEt, produziu redução de algesia induzida pelo glutamato, apenas nas doses de 50 e 100 mg/Kg, quando comparadas ao grupo controle (Figura 21). As IMs calculadas foram de $29 \pm 6\%$ e $54 \pm 9\%$, para as doses de (50 e 100 mg/Kg) respectivamente. A DI_{50} neste experimento foi de 85,11 (80,67 – 89,79) mg/Kg.

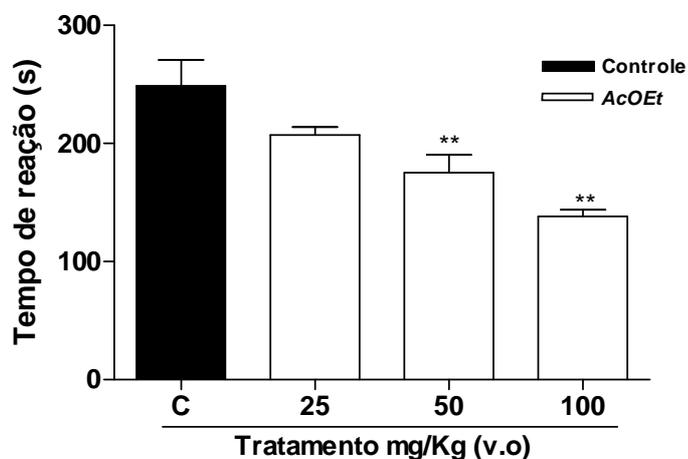


Figura 21. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Ainda no modelo de glutamato o tratamento com a substância pura PB2 não foi efetivo em reduzir a algesia por esse agente (Figura 22).

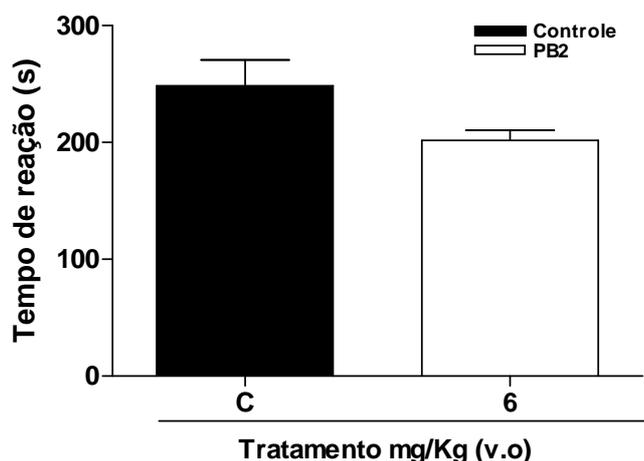


Figura 22. Efeito do PB2, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (6 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste do glutamato. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

5.1.5 Nociceção induzida pela injeção intraplantar de capsaicina

No modelo de dor induzida por capsaicina, em nenhuma dose utilizada no experimento, o EMB produziu ação antinociceptiva (Figura 23).

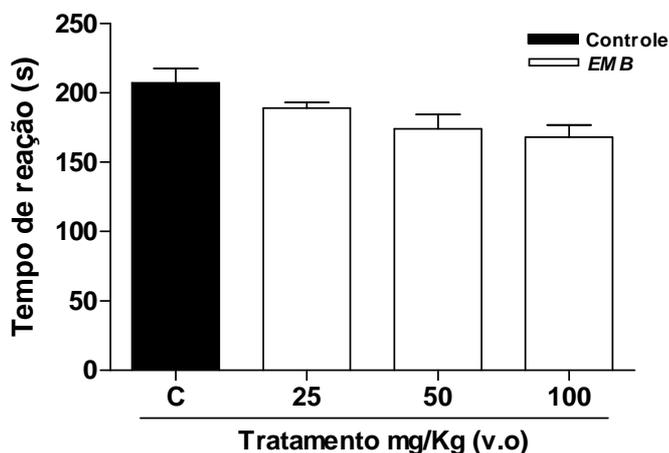


Figura 23. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses soon* (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas, quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

Já a fração AcOEt, no mesmo modelo testado, apresentou efeito antinociceptivo (Figura 24), porém, somente na dose de 100 mg/Kg, com IM calculada de $21 \pm 2\%$.

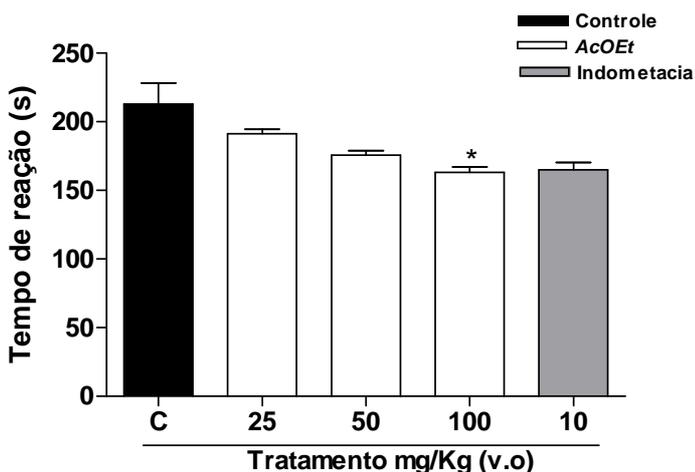


Figura 24. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses soon* (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (* $p < 0,05$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

A Figura 25 mostra que com os animais pré-tratados com a substância pura PB2, foi observado uma redução da resposta álgica induzida pela capsaicina na dose de 6 mg/Kg, sendo a IM calculada de $31\pm 1\%$.

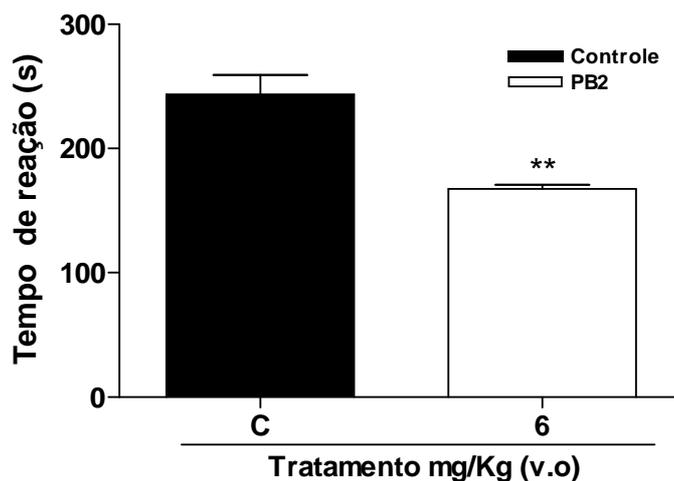


Figura 26. Efeito do PB2, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (6 mg/Kg, v.o), sobre a resposta nociceptiva de camundongos no teste da capsaicina. Cada barra representa a média dos experimentos seguida dos E.P.M.s. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

5.1.6 Nociceção induzida pela injeção intraplantar de Completo adjuvante de Freund (CFA)

As Figuras (26, 27) nos permitem visualizar que o pré-tratamento dos animais em todas as doses, tanto para BEM e fração AcOEt, respectivamente, não foram capazes de inibir a hipernociceção mecânica induzida pelo CFA. Somente a gabapentina, controle positivo usado neste modelo foi capaz de prevenir o surgimento da resposta hipernociceptiva por até 24 hs com IM calculada de $73\pm 7\%$ (** $p < 0,001$).

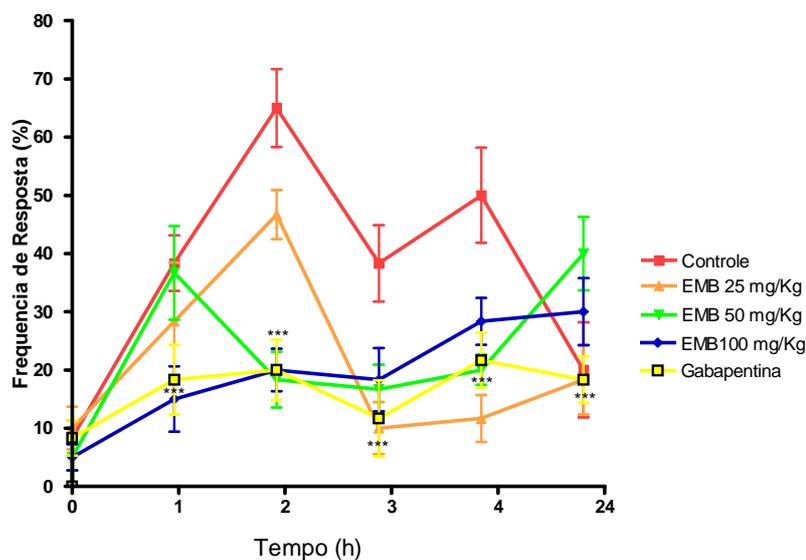


Figura 26. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a freqüência de resposta de animais avaliados em diferentes intervalos de tempo com filamentos de Von Frey, após a injeção i.pl. de CFA (20 ml/pata). Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (***) $p < 0,001$ quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni.

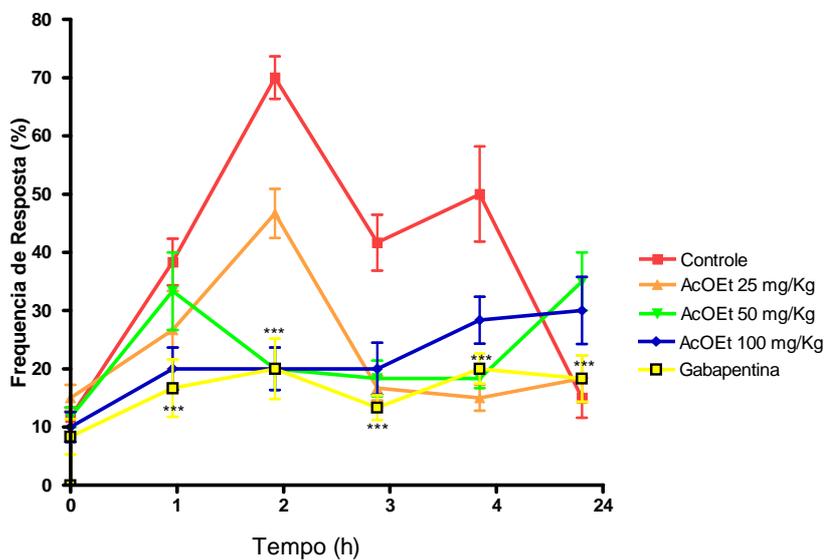


Figura 27. Efeito da fração AcOEt, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a freqüência de resposta dos animais avaliados com filamentos de Von Frey em diferentes intervalos de tempo em animais após a injeção i.pl. de CFA (20 ml/pata). Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância (***) $p < 0,001$ quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni.

Ainda no modelo da nocicepção induzida por CFA (Figura 28), o pré-tratamento dos animais com a substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o), também não reduziu a nocicepção. A IM calculada para a gabapentina foi de $79\pm 4\%$.

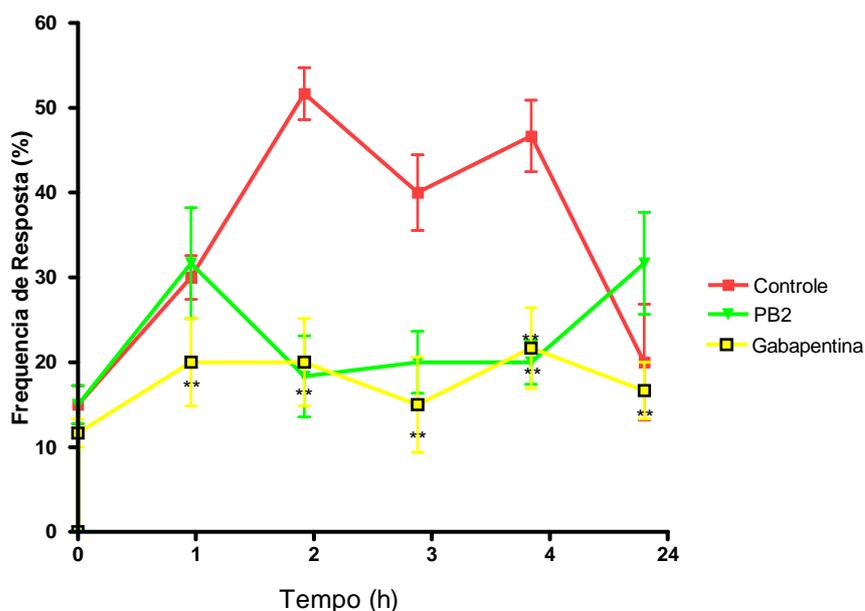


Figura 28. Efeito do PB2, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e gabapentina (70mg/kg, v.o) sobre a freqüência de resposta dos animais avaliados com filamentos de Von Frey em diferentes intervalos de tempo em animais após a injeção i.pl. de CFA (20 ml/pata). Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância (***) $p < 0,001$ quando comparados com controle. ANOVA, 2 vias Bonferroni.

5.1.7 Comparação da atividade antinociceptiva do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2 com fármacos de referência

Na tabela 2 comparou-se o efeito antinociceptivo do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2 obtidos das folhas da planta em estudo, com vários analgésicos de referência utilizados na terapêutica do processo doloroso, em diferentes modelos de nocicepção. Como se pode observar o EMB e a fração AcOEt exibiram perfil farmacológico semelhante a fármacos como indometacina, diclofenaco de potássio, paracetamol, ácido acetil salicílico, dentre outros.

Tabela 2. Comparação da atividade antinociceptiva do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2 obtidos das folhas da Litchi chinenses soon, com analgésicos de referencia em diferentes modelos de nocicepção e hipernocicepção.

Tratamento	IM %	Modelo testado
EMB (100 mg/Kg, v.o)	65±10%	Ácido Acético
	63±6%	Formalina 2 ^a fase
AcOEt (100 mg/Kg, v.o)	83±5%	Ácido Acético
	71±1%	Formalina 2 ^a fase
PB2 (6 mg/Kg, v.o)	22±2%	Ácido acético
	35±9%	Formalina (fase II)
DCM (100 mg/Kg, v.o)	8±1%	Ácido Acético
	6±2%	Formalina 2 ^a fase
HEX (100 mg/Kg, v.o)	11±3%	Ácido Acético
	9±2%	Formalina 2 ^a fase
Indometacina (10 mg/Kg, v.o)	96±1%	Ácido Acético
	79±3%	Formalina 2 ^a fase
Gabapentina (70 mg/Kg, v.o)	73±7%	CFA
<u>a</u> Ácido acetil salicílico (300 mg/Kg, v.o)	83,5%	Ácido acético
	85±4%	Formalina 2 ^a fase
<u>a</u> Diclofenaco potássio (75 mg/Kg, i.p)	100%	Ácido acético
	73±8%	Formalina 2 ^a fase
<u>a</u> Meloxicam (75 mg/Kg, i.p)	100%	Ácido acético
	82±4%	Formalina 2 ^a fase
<u>b</u> Paracetamol (75 mg/Kg, i.p)	68±6%	Ácido acético

a) Hess, 2006

b) Willain-filho 2005

5.2 Avaliação da propriedade antiinflamatória

5.2.1 Modelo de pleurisia induzido por diferentes agentes flogísticos

a) Pleurisia induzida por carragenina

No modelo de pleurisia induzida por carragenina (Cg) o pré-tratamento dos animais com o EMB, inibiu significativamente o extravasamento vascular (Figura 29A) de forma dose-dependente (** $p < 0,01$) quando comparado com o grupo que recebeu o controle negativo (carragenina). As IMs calculadas foram de $29 \pm 4\%$; $42 \pm 3\%$ e $48 \pm 3\%$ para as doses (25; 50 e 100 mg/Kg). Na figura também observa-se o efeito antiextravasamento da indometacina (10 mg/Kg) com IM calculada para $81 \pm 2\%$.

Quanto a migração leucocitária, pode-se observar (Figura 29B) que o pré-tratamento com o EMB da planta reduziu a migração de leucócitos em todas as doses empregadas, tendo o efeito mais pronunciado na dose de 100 mg/Kg. As IMs calculadas foram de $39 \pm 5\%$; 52 ± 4 e $62 \pm 3\%$ para as doses de 25; 50 e 100 mg/Kg, respectivamente, enquanto que com o pré tratamento com indometacina obteve-se IM de $89 \pm 1\%$. No experimento a DI_{50} calculada foi de 66,72 (59,23 – 75,15) mg/Kg.

Avaliando o efeito do tratamento sobre as células mononucleares (Figura 29C) observou-se que o extrato promoveu diminuição do número deste tipo celular, na cavidade pleural dos animais, em relação ao controle, de forma dose-dependente, com efeito maior para a dose de 100 mg/Kg. As IMs calculadas foram de $23 \pm 7\%$; $42 \pm 8\%$ e $52 \pm 7\%$ para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg respectivamente. A DI_{50} calculada foi de 84,17 (72,43 – 97,81) mg/Kg.

Ainda avaliando os tipos de células leucocitárias envolvidas no processo inflamatório, pode-se perceber que o EMB produziu de forma significativa e dose dependente (** $p < 0,01$), redução do número de neutrófilos (Figura 29D) com IMs calculadas de $25 \pm 6\%$; $37 \pm 6 \%$ e $64 \pm 3\%$ respectivamente para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg. A DI_{50} calculada foi de 75,53 (63,62 – 89,67) mg/Kg.

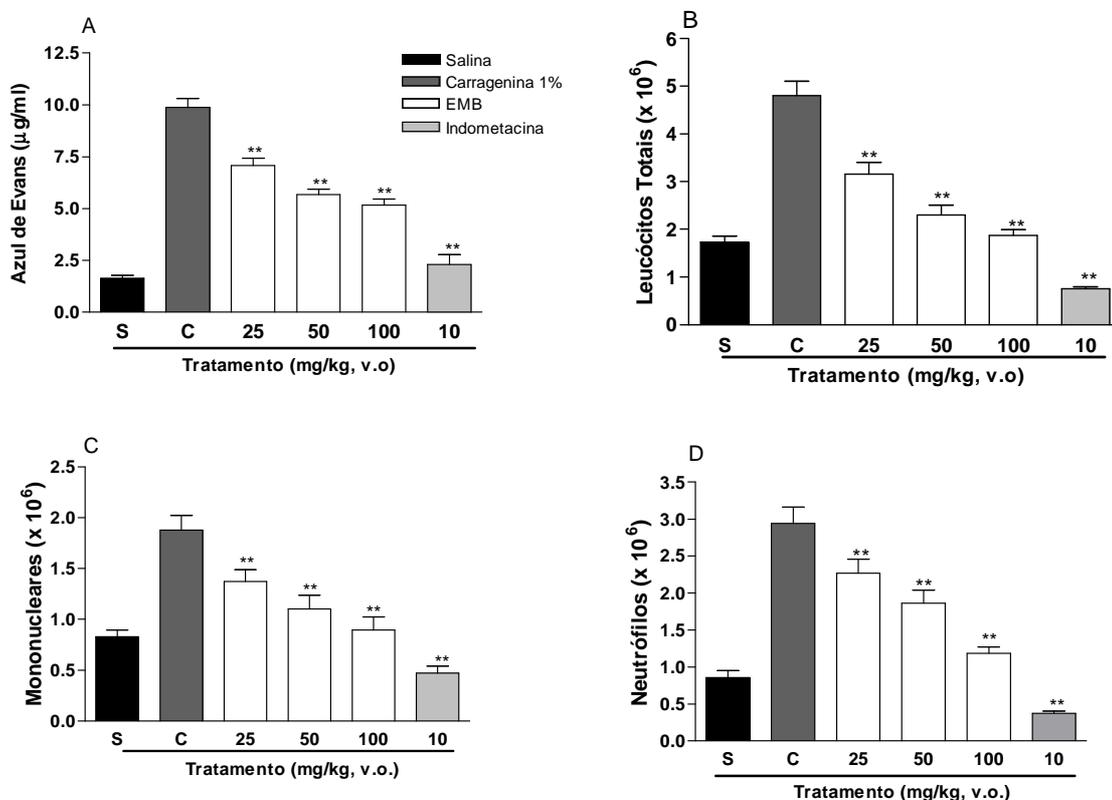


Figura 29. Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg. A- extravasamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet

Neste mesmo modelo o pré-tratamento dos animais com a fração AcOEt, também observou-se redução significativa no extravasamento vascular (Figura 30A) de forma dose-dependente (** $p < 0.01$) quando comparado com o grupo que recebeu o controle negativo. As IMs calculadas foram de $30 \pm 4\%$, $40 \pm 3\%$ e $60 \pm 3\%$ para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, respectivamente. A DI_{50} calculada para o experimento foi de 86,03 (59,13 – 125,18) mg/Kg. Nesta mesma figura também observa-se o efeito antiextravasamento da indometacina (10 mg/Kg) com IM calculada para $80 \pm 4\%$.

Quanto a migração leucocitária, pode-se observar (Figura 30B) que o pré-tratamento com o AcOEt da planta reduziu a migração de leucócitos com todas as doses empregadas, sobretudo na dose de 100 mg/Kg. As IMs calculadas foram de

30±4%, 40±4% e 63±8%, enquanto que com o pré tratamento com indometacina obteve-se IM de 89±1%. Neste experimento a DI_{50} calculada foi de 73,29 (58,45 – 91,91) mg/Kg.

Avaliando o efeito do tratamento sobre as células mononucleares (Figura 30C) e neutrófilos (Figura 30D), observou-se diminuição nos números destes tipos celulares, na cavidade pleural durante o experimento, em relação ao controle negativo, de forma dose-dependente. As IMs calculadas foram de 59±7%; 70±8% e 80±5% respectivamente para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg para os mononucleares. Com relação a inibição da migração de neutrófilos as IMs calculadas foram de 60±7%; 73±4% e 80±5% respectivamente para as doses de 25; 50 e 100 mg/Kg. Neste experimento a DI_{50} não foi calculada uma vez que a dose inicial utilizada em ambos os casos reduziram a migração celular (leucócitos e mononucleares) em mais de 50 %.

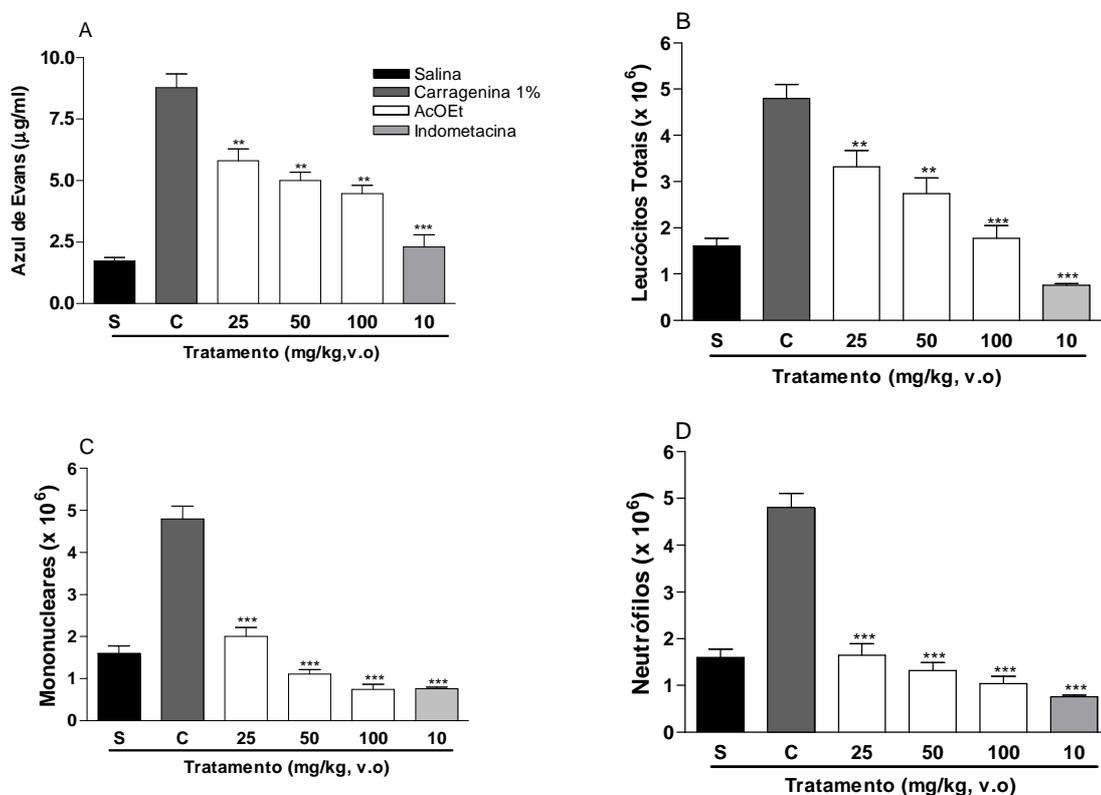


Figura 301. Efeito da administração oral da fração AcOEt (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg. A- extravasamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$), (***) $p < 0,001$) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet

Com o pré-tratamento com a substância pura PB2, observa-se também uma redução no extravasamento vascular (Figura 31A), nas doses de (3 e 6 mg/Kg, v.o) com IMs calculadas de $18 \pm 4\%$ e $28 \pm 5\%$ respectivamente quando comparado com o grupo que recebeu o controle negativo. Na figura também observa-se o efeito antiextravasamento da indometacina (10 mg/Kg) com IM calculada para $80 \pm 1\%$.

Quanto a migração leucocitária, pode-se observar (Figura 31B) a redução da migração de leucócitos nas doses de 3 e 6 mg/Kg, sendo as IMs calculadas respectivamente de $30 \pm 4\%$ e $40 \pm 5\%$.

Avaliando o efeito do tratamento sobre a migração celular sobre as células mononucleares e neutrófilos (Figura 31 C e D) a substância pura PB2 promoveu

diminuição do número destes tipos celulares, quando comparados ao controle negativo, com IMs calculadas para neutrófilos de $34\pm 7\%$ e $77\pm 5\%$ nas doses de 3 e 6 mg/Kg, respectivamente e IMs calculadas para mononucleares de $42\pm 11\%$ e $70\pm 5\%$ nas doses de 3 e 6 mg/Kg, respectivamente. A dose de 10 mg/Kg não demonstrou significância, para nenhum dos parâmetros avaliados.

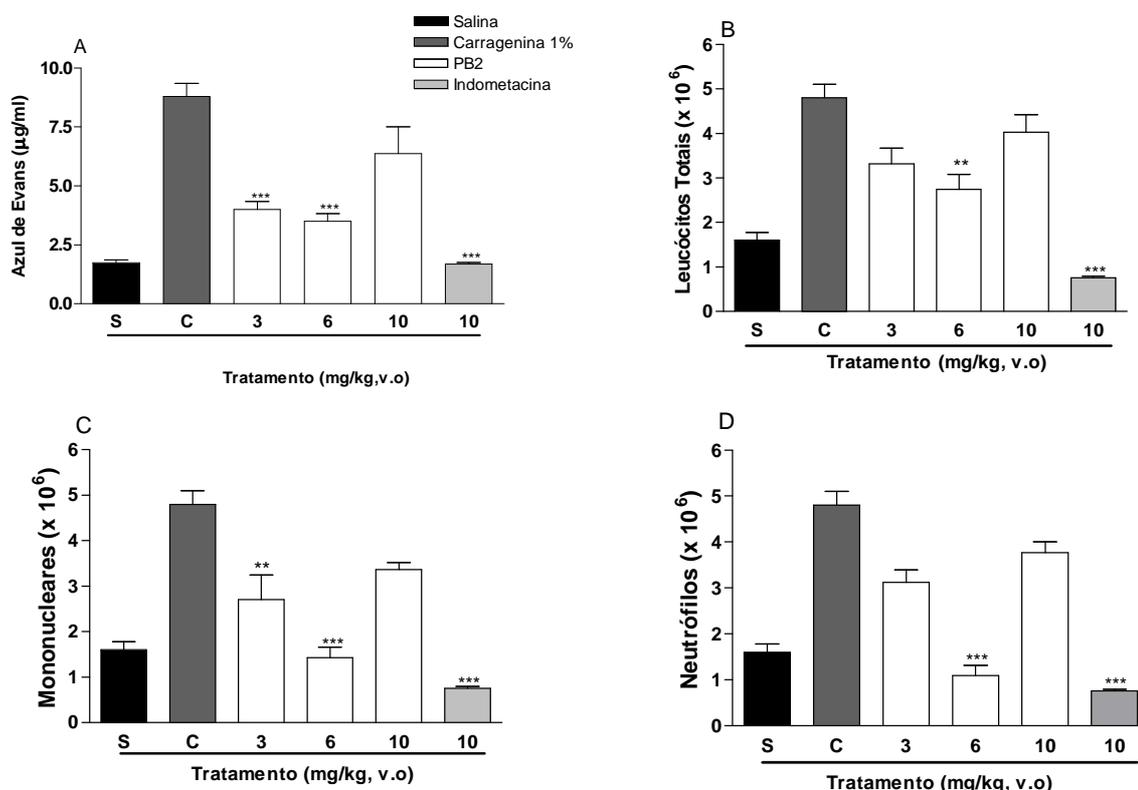


Figura 31. Efeito da administração oral da substancia pura PB2 (3, 6 e 10 mg/Kg, v.o) obtido das folhas de *Litchi chinenses soon* e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por Cg (300µg/cav.). A- extravazamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média ± E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01), (**p < 0,001) quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet

b) Pleurisia induzida por SP

Na pleurisia induzida por Substância P (SP) o pré-tratamento com o EMB, provocou redução do extravasamento vascular de forma dose dependente (Figura 32A). As IMs calculadas foram de $39\pm 7\%$; $45\pm 4\%$ e $47\pm 8\%$ respectivamente.

Com relação a migração leucocitária observou-se (Figura 32B) o EMB promoveu a redução do número de leucócitos totais de forma significativa e dose dependente (** $p < 0,01$), com IMs calculadas de $41\pm 7\%$; $50\pm 2\%$ e $60\pm 6\%$ para as doses de 25, 50 e 100 mg/Kg, respectivamente. A indometacina inibiu $84\pm 5\%$ dos eventos.

Quanto as células mononucleares (Figura 32C), o EMB foi capaz de reduzir a migração desse tipo celular, somente com a dose de 100 mg/Kg, com IM calculada de $48\pm 6\%$. A IM calculada para indometacina foi de $78\pm 7\%$.

Observando a ação do extrato sobre os neutrófilos, percebe-se que o mesmo foi capaz de inibir a migração dessas células para a cavidade pleural de forma significativa e dose-dependente (Figura 32D), com IM de $50\pm 7\%$ e $66\pm 3\%$ para as doses de 50 e 100 mg/Kg, respectivamente.

Neste experimento a DI_{50} não foi calculada uma vez que a dose de 50 mg/Kg utilizada, reduziu a migração celular (leucócitos e neutrófilos) já em 50 %.

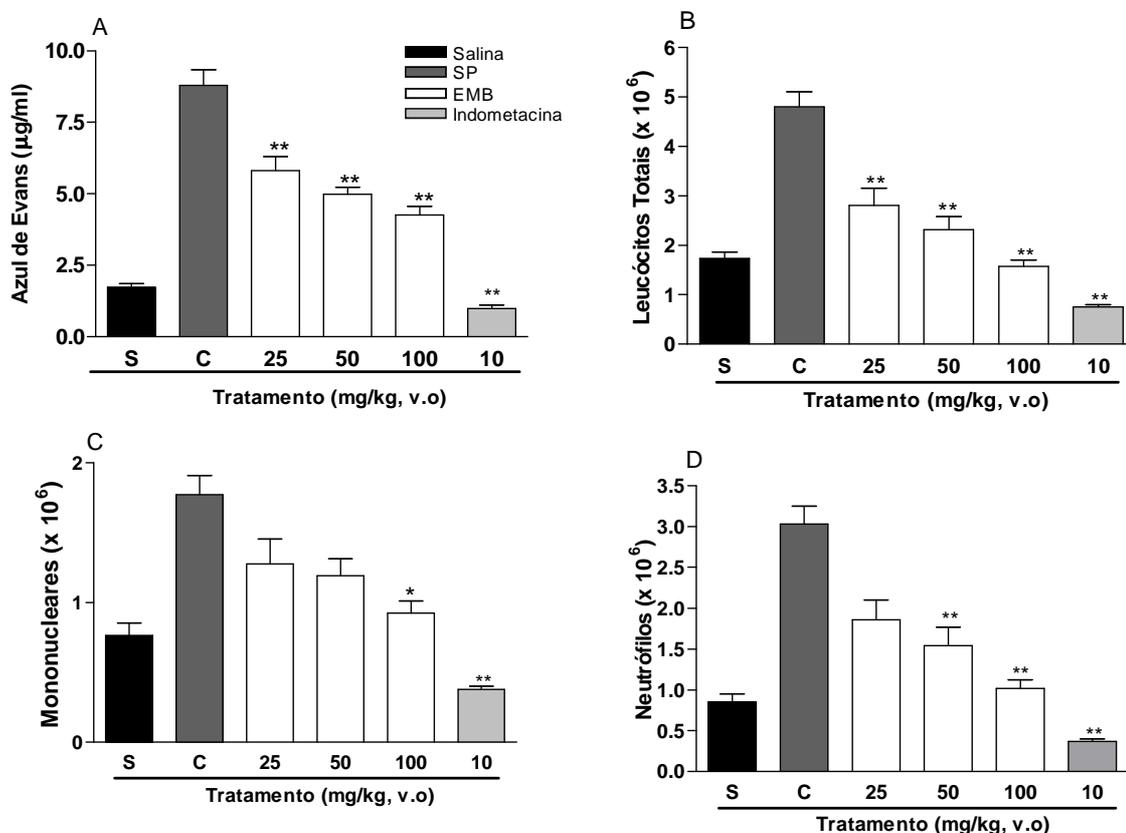


Figura 32. Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por SP (20 nmol/cav). A- extravasamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D - neutrófilos. Os dados são expressos como a média ± E.P.M.. Asteriscos denotam significâncias estatísticas (*p<0,05); (**p < 0,01), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet.

c) Pleurisia induzida por Histamina

Na pleurisia induzida por histamina (His) (Figura 33A) observou-se que o EMB apenas reduziu o extravasamento vascular na cavidade pleural dos animais, na dose de 100 mg/Kg com IM calculada de 40±6% ficando a indometacina com IM de 90±1%. No mesmo experimento, observou-se também que o tratamento dos animais com o extrato promoveu redução da migração leucocitária (Figura 33B), de forma dose dependente, porém com significância para as doses de 50 e 100 mg/Kg, sendo as IMs calculadas de 25±3% e 54±3% respectivamente. A DI₅₀ calculada para esse experimento foi de 85, 31 (79,65 – 71,38) mg/Kg.

Com relação a migração das células mononucleares (Figura 33C), observou-se redução dessas células apenas na dose de 100 mg/Kg, sendo a IM calculada de $60\pm 6\%$. Para os neutrófilos (Figura 33D), as doses de 50 e 100 mg/Kg reduziram a quantidade dessas células com IMs calculadas de $50\pm 8\%$ e $70\pm 6\%$ respectivamente.

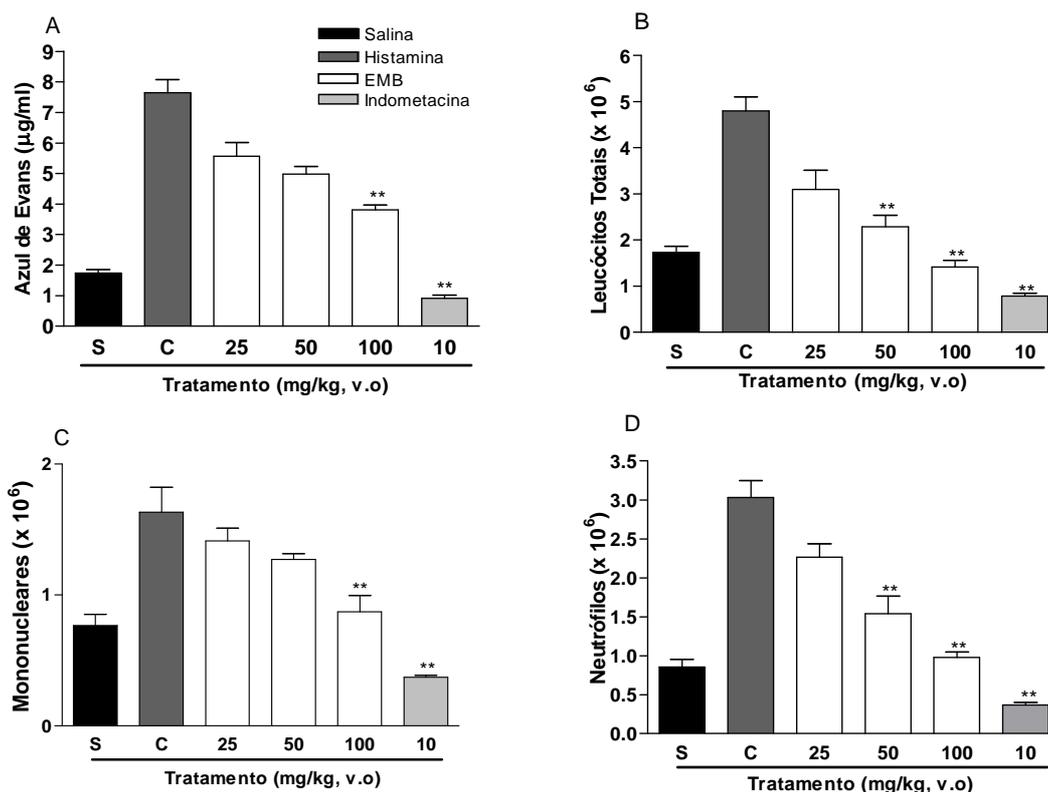


Figura 33. Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina(10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por His (100 µg/cav.). A- leucócitos totais, B- extravasamento vascular, C- neutrófilos e D- mononucleares. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (** $p < 0,01$), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet

d) Pleurisia induzida por Bradicinina

Na (Figura 34), estão representados os resultados obtidos com o EMB no modelo de pleurisia induzida por Bradicinina (BK). O extrato produziu efeito antiinflamatório baixo, em todos os parâmetros observados, apenas na dose de 100 mg/Kg. Para o extravasamento vascular (Figura 34A) observa-se uma tendência a

redução do edema induzida por BK, porém sem significância estatística, apenas a indometacina teve ação sendo a IM calculada de $87\pm 3\%$. A dose de 100 mg/Kg do EMB produziu redução da migração leucocitária com IM de $29\pm 4\%$ (Figura 34B). Em se tratando de células mononucleares e neutrófilos, observa-se um maior ação na redução desses elementos celulares, com IMs calculadas de $58\pm 4\%$ para neutrófilos (Figura 34D) e de $71\pm 8\%$ para mononucleares (Figura 34C). As DI_{50} calculadas para esse experimento foram de 80,65 (71,73 – 90,69) para mononucleares e 67,93 (51,71 – 89,25) para neutrófilos.

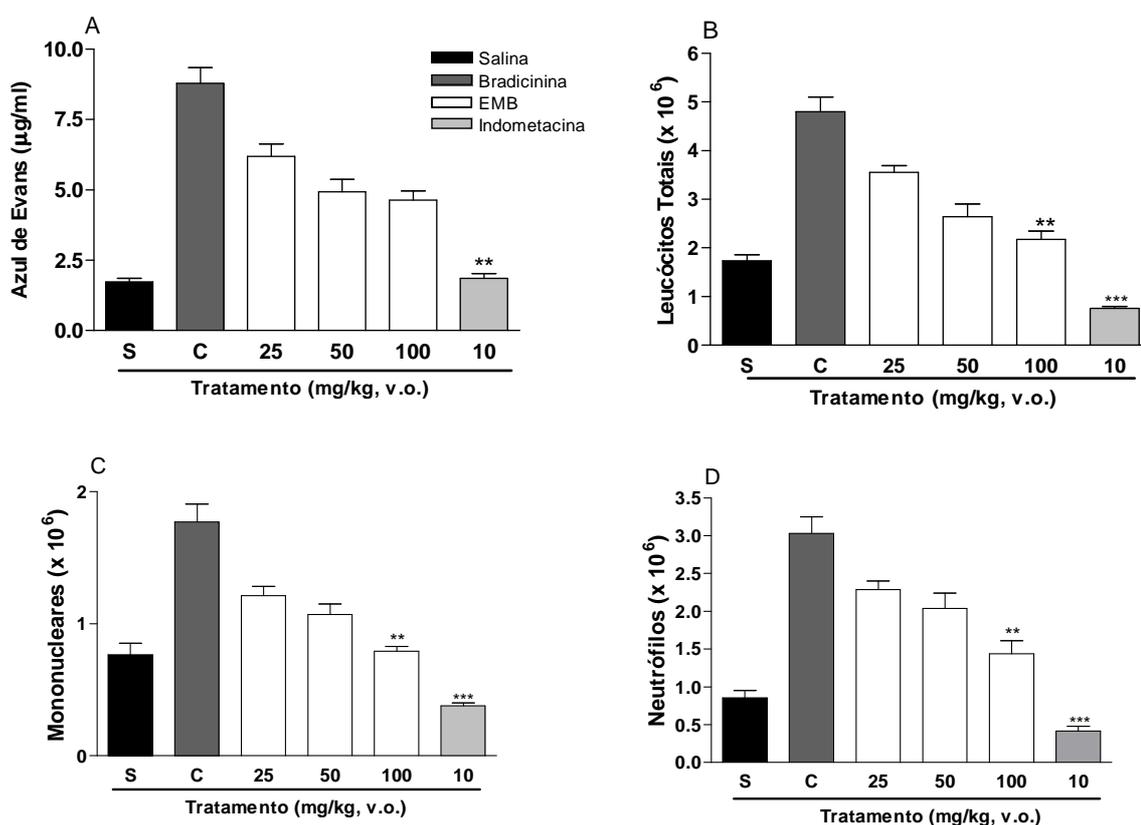


Figura 34. Efeito da administração oral do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon (25, 50 e 100 mg/Kg, v.o) e indometacina (10 mg/Kg, v.o) sobre os eventos da pleurisia induzida por BK (10 nmol/cav.). A- extravasamento vascular, B- leucócitos totais, C- mononucleares e D- neutrófilos. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Asteriscos denotam significância estatísticas (**p < 0,01) e (**p < 0,001), quando comparados com controle. ANOVA, Dunnet

5.2.2 Modelo de edema de pata induzida por diferentes agentes flogísticos

a) Edema de pata induzido por Carragenina

Conforme se observa na tabela 3, o efeito antiedematogênico do EMB, e da fração AcOEt, já é observado 1 h após a injeção intraplantar de Cg, com as doses de 50 e 100 mg/Kg. As IMs calculadas foram de 48±2% e 46,9±3% para a dose de 50 mg/Kg e de 50±3% e 50±2% para a dose de 100 mg/Kg, para a 4ª hora após a indução. Também foi observado que tanto para o EMB quanto a fração AcOEt, a dose de 25 mg/Kg só reduziu o edema após a 4ª hora da indução com Cg. Já a substância pura PB2 apresentou acentuado efeito antiedematogênico desde os primeiros 30 minutos de indução com IM calculada de 61,6±6% para a 4ª hora e continuou agindo ao longo do experimento. O perfil farmacológico da PB2, mostrou-se muito similar ao da dexametasona onde se obteve IM de 65±1% também para a 4ª hora.

Tabela 3. Efeito do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2, obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, no modelo de edema de pata induzido por Cg (300 µg/pata).

Grupos	Dose (Mg/Kg)	Período de latência (hs)					
		0,5	1	2	4	6	24
Controle	0	53,33±2,1	56,66±2,1	76,66±2,1	90±2,6	45±2,2	28,33±3
EMB	25	46,66±4,9	55±4,3	56,66±4,2	47,66±5,4**	25±3,4**	21,66±4
		12,5%	13,5%	26%	47%	44%	23%
EMB	50	41,66±3	45±4,3	50±3,6	46,66±4,2**	28,33±1,6**	18,33±3**
		21,8%	20,5%	34,7%	48%	37%	35,3%
EMB	100	33,33±2,1	36,66±3,3**	41,66±4**	44,66±3,3**	26,66±2,1**	16,66±3,3**
		37,5%	35,3%	45,6%	50%	40,7%	41%
AcOEt	25	45,54±3,7	43±3,4	54,35±3,9	47,78±2,3**	26,32±4,4**	23,7±4,5
		14,6%	24%	29%	46,9%	41,5%	16%
AcOEt	50	40,98±5,2	46,23±3,6	51±2,8	47,12±1,2**	28,50±2,3**	22,24±5
		23,1%	18,4%	33,5%	47,6%	36,6%	21,4%
AcOEt	100	34,12±1,9	37,23±5,2**	43±2,1**	44,76±2,7**	27,35±3,4**	17,22±4,1**
		36%	34,3%	43,9%	50%	39%	39%
PB2	6	25±2,3**	37,2±2,5**	40,4±3**	34,56±2,3**	25,15±2,7**	19,24±2,5**
		53%	43,5%	47,3%	61,6%	44%	32%
Dexametasona	0,5	26,66±3,3**	30±2,6**	45±4,3**	31,33±2,1**	23,33±2,1**	15±3,4**
		50%	47%	41,3%	65%	48%	47%

Valores expressos em média ± SEM (µL/pata). (**p<0,01). Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste Dunnet quando comparados ao grupo controle (salina).

b) Edema de pata induzido por SP

Conforme demonstra a tabela 4, o efeito antiedematogênico do EMB, já é observado 60 minutos após a injeção intraplantar de SP em todas as doses e perpetua ao longo do tempo, com IMs calculadas de 32,6±3%; 44,6±5% e 48,6±6% para as doses de 25; 50 e 100 mg/Kg respectivamente. A indometacina atuou na redução do edema até os 180 minutos.

Não foram observados efeitos do extrato aos 180 minutos com nenhuma das doses utilizadas, somente o efeito da indometacina.

Tabela 4. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon, no modelo de edema de pata induzido por SP (20 nmol/pata).

Grupos	Dose (Mg/Kg)	Período de latência (min)					
		30	60	90	120	150	180
Controle	0	80±7,7	56,6±6,1	35±4,2	25±2,58	15±2,2	12,6±1,6
EMB	25	61,6±8,7	38,3±3,1**	23,6±1,6**	16,9±4,94**	10,10±4,77**	10±3,3
		23%	32,3%	32,5%	32,4%	32,6%	20,6%
EMB	50	60,0±4,5	33,3±3,3**	20,3±4,01**	14,2±4,94**	8,3±2,1**	9,6±2,1
		25%	41,1%	42%	43,2%	44,6%	23,8%
EMB	100	56,6±4,9	30,0±3,6**	18,2±3,3**	13,0±4,47**	7,7±2,1**	9,8±1,6
		29,2%	47%	48%	48%	48,6%	22,2%
Indometacina	10	51,6±7,03**	33,3±5,57**	20,0±3,6**	11,6±3,07**	6,9±3,3**	7,2±1,6**
		35,5	41,10	42,8%	53,6%	54%	42,8%

Valores expressos em média ± SEM (µL/pata). (**p<0,01). Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste Dunnett quando comparados ao grupo controle (salina).

c) Edema de pata induzido por Histamina

Já na tabela 5, observa-se o efeito antiedematogênico do EMB. O extrato foi capaz de reduzir o edema de pata induzido por histamina, nos primeiros 15 minutos nas doses de 50mg/Kg e 100 mg/Kg com IMs calculadas de 47±6% e 50±2% respectivamente para os 60 minutos. A ação antiedematogênica continuou ao longo do tempo. A indometacina teve a IM de 68±7% também para o tempo de 60 minutos.

Tabela 5. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon, no modelo de edema de pata induzido por His (300 µg/pata).

Grupos	Dose (Mg/Kg)	Período de latência (min)				
		15	30	45	60	120
Controle	0	80,0±6,83	71,66±8,7	47,66±3,07	28,33±3,07	20,0±2,58
EMB	25	66,6±2,1 16,75%	51,6±3,07 28%	31,6±4,77** 33,7%	18,3±3,07** 35%	18,6±2,58 7%
EMB	50	50,06±4,47** 37,4%	41,6±4,77** 42%	30,0±5,62** 37%	15,0±2,58** 47%	15,0±4,47 25%
EMB	100	41,6±4,01** 48%	40,0±5,16** 44%	25,0±4,28** 47,5%	14,1±4,21** 50,2	15,0±2,23 25%
Indometacina	10	35,0±4,28** 56%	25±4,28** 65%	20,0±4,47** 58%	9,1,0±2,23** 68	11,0±2,23** 45%

Valores expressos em média ± SEM (µL/pata). (**p<0,01). Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste Dunnet quando comparados ao grupo controle (salina).

d) Edema de pata induzido por Bradicinina

Conforme demonstra a tabela 6, somente foi observado efeito antiedematogênico do EMB, na dose de 100 mg/Kg após 60 minutos da indução do edema pela BK com IM calculada de 35,3±3%. Não foi encontrada significância estatística para as demais concentrações nem tão pouco significância para outros tempos de leitura, nesta dose de (100 mg/Kg). A indometacina promoveu efeito antiedematogênico durante todo o experimento com IM calculada de 68±2% no tempo de 60 minutos.

Tabela 6. Efeito do EMB, obtido das folhas de *Litchi chinenses* soon, no modelo de edema de pata induzido BK (3nmol/pata).

Grupos	Dose (Mg/Kg)	Período de latência (min)				
		15	30	45	60	120
Controle	0	71,6±8,72	51,6±3,07	41,6±4,77	28,3±3,07	20,0±2,58
EMB	25	80,0±6,83	66,6±2,1	50,0±4,47	31,6±4,01	35,0±4,28
		11,7%	29%	20%	11%	5%
EMB	50	81,6±6,54	61,6±4,77	45,0±5,62	23,0±2,58	25,0±4,47
		13,9%	19,4%	8%	18,7%	12%
EMB	100	80,0±5,3	55,0±5,16	30,0±4,28	18,3±4,21**	17,0±2,23
		11,7%	6,6%	27,9%	35,3%	15%
Indometacina	10	46,6±9,88**	30,3±5,57**	26,6±4,94**	9,0±3,65**	11,0±2,23**
		34,9%	41,3%	36%	68%	45%

Valores expressos em média ± SEM (µL/pata). (**p<0,01). Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste Dunnet quando comparados ao grupo controle (salina).

5.3 Verificação da função motora dos animais (Rota Rod)

O tratamento oral com o EMB e fração AcOEt (100 mg/Kg, v.o) e a substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o), veículo (10 mg/kg, v.o) ou gabapentina (70 mg/kg, v.o), não foi capaz de afetar de modo significativo o desempenho motor (tempo de permanência sobre o cilindro em movimento) dos animais quando avaliados 1h após o tratamento (Figura 35) no teste de *rota-rod*.

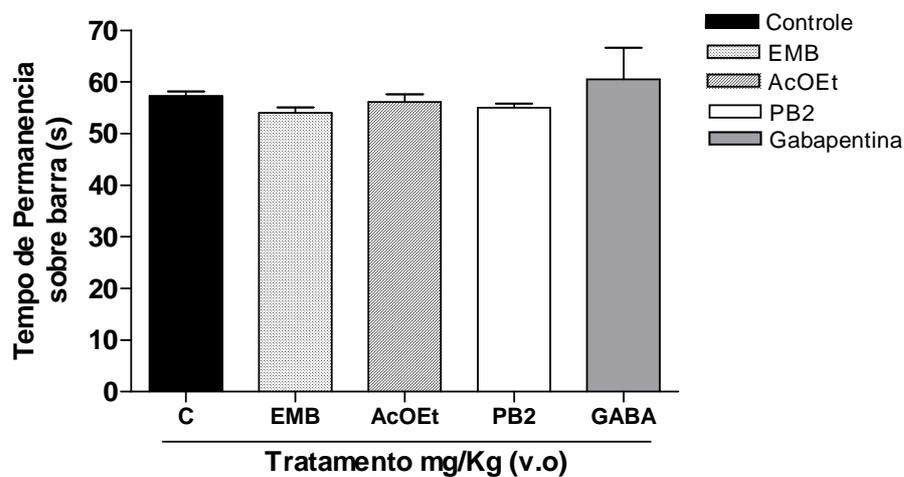


Figura 35 Efeito do tratamento do EMB (100 mg/Kg, v.o); fração AcOEt (100 mg/kg, v.o), e substância pura PB2 (6 mg/Kg, v.o) obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon e gabapentina (GABA-70 mg/kg, v.o) sobre a performance motora dos animais avaliados no teste do Rota rod. Os dados são expressos como a média \pm E.P.M.. Os dados foram expressos como a média \pm E.P.M. de 6 animais em cada grupo. ANOVA seguido do teste *t* Student's comparando os grupos tratados com o controle.

6 DISCUSSÃO

O Brasil é o país com uma das maiores diversidades genética vegetal do mundo, com cerca de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 espécies. Mesmo assim o mercado brasileiro apresenta-se com poucas espécies vegetais nativas, estudadas com potencial medicamentoso, sendo predominante a utilização de plantas européias e asiáticas. Isso se deve a poucas pesquisas clínicas e os reduzidos investimentos na área farmacêutica para comprovar a ação farmacológica das plantas medicinais brasileiras (SIMÕES e cols., 2004). A *Litchi chinenses* soon, é um exemplo dessa realidade, planta que é originária da china e tem seu uso popular, para tratamentos de dores e inflamações.

São poucos os estudos na literatura sobre as suas ações farmacológicas, principalmente com suas folhas. O que pode ser encontrado em artigos mais recentes, é a avaliação farmacológica de extratos obtidos do pericarpo das frutas de *Litchi chinenses*, onde foram confirmadas sua atividade antioxidante, imunomodulatória, antitumoral e propriedade antifúngica contra cepas de *streptovercilliuml morrokanse*. (BESRA; SHARMA; GOMES, 1996; YANG e cols., 2006; DUAN e cols., 2007; ZHAO e cols., 2006; WANG e cols., 2006; FENG e cols., 2007)

Não foram encontrado estudos na literatura avaliando o extrato bruto metanólico (EMB), nem tão pouco a fração acetato de etila (AcOEt) de suas folhas. Apenas a fração hexano é referenciada em termos de dor e inflamação, no trabalho de Besra; Sharma e Gomes (1996). Tais autores avaliando as propriedades antiinflamatórias, antinociceptiva e antipirética da planta, demonstraram que o extrato hexano das folhas de *Litchi chinenses*, foi eficaz em reduzir o edema e algesia em camundongos através do modelo de edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina e ácido araquidônico, edema de orelha induzido por óleo de cróton e teste das contorções abdominais induzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético. Entretanto os resultados mostraram-se bastante preliminares. Também neste mesmo artigo foi descrito o efeito antipirético do extrato hexano das folhas desta planta avaliada no modelo injeção de levedura de cerveja na nuca via sub-cutânea.

Sendo assim este trabalho buscou avaliar através do EMB, fração AcOEt e uma substância pura procianidina B2 (PB2), obtidos das folhas de *Litchi chinenses* soon, de uma maneira mais profunda, essas possíveis ações (antinociceptiva e antiinflamatória), utilizando modelos de nocicepção e inflamação específicos.

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético, foi desenvolvido por Koster; Andersons; Debber, (1959) e adaptado ao longo dos tempos, é um típico modelo para avaliar a dor de origem inflamatória. Tem boa sensibilidade, porém é pouco específico e é considerado como uma ferramenta de triagem para avaliação de atividade analgésica e antiinflamatória por sua simplicidade de execução (WHITTLE, 1994; RIBEIRO e cols., 2000).

Esse modelo é considerado por alguns autores como muito simples, mas se mostra sensível aos antiinflamatórios não esteroidais, do qual agem inibindo a COX-1 e COX-2, antiinflamatórios esteroidais além de opióides (BLANE e cols., 1967; RIBEIRO, 2000; IKEDA e cols., 2001) A administração de um agente irritante na membrana serosa, origina um comportamento estereotipado em camundongos e ratos, caracterizado por contorções abdominais e falta de coordenação da atividade motora, evidenciando dor visceral (LE BARS e cols., 2001). O ácido acético promove indiretamente liberação de vários mediadores, os quais são liberados por macrófagos e basófilos existentes na cavidade abdominal. É descrito na literatura que os smediadores liberados durante o experimento destacam-se a BK, SP, PGEs, IL-1B, TNF, os quais ativam nociceptores quimiosensíveis contribuindo o desencadeamento da dor de origem inflamatória.

Neste modelo se observa que tanto o EMB, quanto a fração AcOEt, reverteu de maneira dose dependente o número de contorções abdominais produzidas pela injeção i.p de ácido acético em camundongos. Resultado semelhante também obtido por Besra e cols., (1996), quando utilizaram as doses de 50, 100 e 200 mg/Kg (i.p), sugerindo uma ação antinociceptiva do extrato, porém hexano, obtido das folhas da *Litchi chinenses*. Pode-se aferir que o efeito de antinociceptivo do EMB e fração AcOEt, pode estar relacionado com a inibição da liberação de mediadores pró-inflamatórios, induzida por ácido acético. Por outro lado a substância pura PB2 não produziu efeito antinociceptivo, neste modelo em nenhuma das doses utilizadas. Tal feito nos leva a

crer que os mediadores da resposta dolorosa induzida pelo ácido acético não são inibidos pela substância uma vez que a substância se mostrou efetiva em outros modelos de dor.

A antinocicepção induzida por EMB, fração AcOEt e substância pura PB2 é confirmada pelo modelo de formalina o qual foi desenvolvido por Dubuisson e Dennis (1977), sendo adaptado também ao longo dos tempos. O modelo consiste na injeção intraplantar da formalina, que causa a estimulação de nociceptores, induzindo o animal a comportamentos típicos como lambar, e/ou morder a pata injetada (DUBUISSON; DENNIS, 1977; HUNSKAAR; FASMER; HOLE, 1985).

Este modelo é composto em duas fases de nocicepção, sendo a primeira de origem neurogênica e visualizada imediatamente após a injeção de formalina, durando cerca de 5 minutos. Hunskaar; Fasmer; Hole, (1985) descrevem que nesta fase ocorre estimulação química direta dos nociceptores das fibras sensoriais aferentes principalmente fibras do tipo C, devido a mediadores como SP, glutamato e BK (HUNSKAR; FASMER; HOLE, 1985; HEAPY; JAMIESON; RUSSEL, 1987). A segunda fase é de origem inflamatória, tem início 15 minutos após a injeção da formalina e termina em 30 minutos. Nesta fase ocorre uma união de estímulos que incluem, inflamação nos tecidos periféricos e mecanismos de sensibilização espinhal e central. Ambas as fases também envolvem mediadores químicos diferentes (VANEGAS; SCHAIBLE, 2004).

Os resultados obtidos nesse modelo são condizentes com resultados encontrados no modelo do ácido acético, sendo que o EMB e a fração AcOEt, reduziram também de forma dose dependente a nocicepção induzida por formalina em camundongos tanto na fase neurogênica quanto na fase inflamatória. A inibição nas duas fases mostraram-se similares. Isto nos leva a supor que o EMB e a fração AcOEt, possuem efeito antinociceptivo e antiinflamatório, atuando na dor tanto de origem neurogênica como inflamatória.

Com a substância pura PB2, quando avaliada no modelo de formalina, observou-se que tanto na primeira fase, como na segunda, do teste, houve redução da resposta álgica. Os experimentos demonstraram que esse composto pode ter uma

possível ação mais pronunciada na dor de origem neurogênica, onde a inibição da resposta algica se mostrou mais efetiva.

Cabe salientar que a indometacina que foi utilizada como controle positivo, teve sua ação efetiva apenas na segunda fase da formalina, devido ao fato deste fármaco ser um AINEs não específico para COX, atuando na dor de origem inflamatória (crônica), e não na dor de origem neurogênica (aguda).

Outro modelo utilizado para estudar a atividade antinociceptiva da planta foi o modelo da placa quente (Hot-plate). Esse modelo foi adaptado por Ankier, (1974) com outras adaptações ao longo do tempo. O teste é usado com o objetivo de avaliar o limiar antinociceptivo de substâncias e/ou compostos que possuem efeito supra medular, uma vez é efetivo para opióides.

Neste modelo o EMB nas doses de (50 e 100 mg/Kg), produziu aumento do tempo de latência de camundongos expostos à placa quente, quando comparados ao controle. Por outro lado a fração AcOEt, somente produziu aumento do limiar nociceptivo com a dose de 100 mg/Kg e o tratamento dos animais com a substância pura PB2 (6 mg/Kg), também produziu aumento do limiar nociceptivo. A resposta antinociceptiva do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2, não foi revertida pelo pré-tratamento com a naloxona, um antagonista opióide não seletivo, como foi observado no grupo que recebeu morfina. Nesse modelo a atividade antinociceptiva foi confirmada, e, sugere-se que a ação antinociceptiva encontrada, não é exclusivamente dependente do sistema opióide.

A capsaicina é um componente ativo encontrado na pimenta vermelha, e é utilizada como uma potente ferramenta farmacológica para estudo de drogas que provavelmente atuam na modulação da transmissão nociceptiva através dos neurônios sensoriais do tipo C e A δ (HOLZER, 1991).

Alguns autores (SZALLASI; BLUMBERG, 1999; MALBERG; YAKSH, 1994) propõe que a capsaicina induz resposta nociceptiva por ligação direta com receptores para capsaicina, chamados de receptores vanilóides (VTRP), sendo que os receptor sub-tipo 1 está presente em neurônios sensitivos primários, e a ativação direta de aferentes primários pela capsaicina, leva a produção de PGE₂ na medula espinhal podendo ainda liberar glutamato.

Vários autores (Holzer, 1991; Szallasi;Blumberg, 1999; Santos; Calixto, 1997), sugerem que são diversos os mediadores envolvidos nesta ação. Também é referido que a dor induzida por capsaicina se assemelha muito com a primeira fase do modelo de formalina caracterizando ambas as dores como uma dor do tipo neurogênica. Os resultados obtidos nesse experimento principalmente com a substância pura PB2 confirmam os demais, onde observa uma ação mais pronunciada na dor de origem neurogênica, como na primeira fase da formalina.

Para testar a hipótese do envolvimento de aminoácidos excitatórios no efeito do EMB, fração AcOEt e a substância pura PB2, foi realizado o modelo de nocicepção induzida por glutamato, o qual foi desenvolvido por Beirith; Santos; Calixto, (2000).

Segundo Zhou (1996), o glutamato, é o neurotransmissor encontrado na maioria das sinapses excitatórias rápidas no sistema nervoso de mamíferos e está envolvido em processos fisiológicos como memória e aprendizado e em várias patologias como neurodegeneração crônica e aguda. Também exerce papel de extrema importância na transmissão da dor, sendo liberado na medula espinhal, após lesão tecidual ou em processos inflamatórios (ZHOU e cols., 1996; BEIRITH e cols., 2003).

O glutamato exerce seus efeitos pós-sinápticos via diversos receptores de membrana pertencentes tanto a classe de metabotrópicos quanto ionotrópicos. Entre os receptores ionotrópicos o receptor NMDA tem se sobressaído devido papéis que desempenha na transmissão sináptica excitatória e na neurodegeneração no SNC (PETRENKO e cols., 2003).

São muitas as evidências que a dor associada com injúria tecidual ou nervosa periférica, envolve ativação desses receptores, e que além dos receptores NMDA envolvidos também podemos encontrar receptores do tipo espinhais e supraespinhais os quais são largamente influenciados pela liberação de NO. Podemos sugerir que o EMB e a fração AcOEt, podem estar atuando na inibição da síntese do NO, ou de certa forma antagonizando os receptores NMDA, podendo futuramente, com estudos mais aprofundados, tornarem-se ferramenta terapêuticas para o tratamento de dores inflamatórias e neuropáticas.

Os resultados obtidos nesse presente estudo, mostraram que tanto o EMB como a fração AcOEt, reduziram de forma significativa a nocicepção causada pela injeção

intraplantar de glutamato, principalmente a dose de 100 mg/Kg, sugerindo assim e confirmando novamente uma possível ação na dor de origem inflamatória desses compostos testados. Porém essa ação não foi confirmada com o grupo pré-tratado com a substância pura PB2, demonstrando novamente a sua pouca ação em nível de dor de origem inflamatória.

Um dos objetivos do presente estudo foi verificar se a planta em estudo poderia exibir efeito antinociceptivo em dores consideradas do tipo crônica. Para tanto foi utilizado o modelo do CFA, desenvolvido por Cao e cols., (1998) e adaptado por Quintão e cols., (2005). A administração de CFA na pata de camundongos produz um processo inflamatório que se desenvolve rapidamente e pode persistir por várias semanas (BILLIAU; MATTHYS, 2001)

Essa reação inflamatória local é caracterizada por vários fatores como, eritema, aumento da temperatura local, extravasamento plasmático, infiltração de células inflamatórias, associadas com a produção de vários mediadores inflamatórios e nociceptivos tais como, citocinas, neurotrofinas e eicosanóides e a resposta hipernociceptiva é mediada pela sensibilização local do nociceptor e por mecanismos sistêmicos neurais e imune (WOOLF; TRIVEDI, 2004).

Atualmente o modelo do CFA é caracterizado como modelo de hipernocicepção. Animais que recebem CFA exibem hipersensibilização a estímulos mecânicos e térmicos.

Nesse tipo de hipernocicepção mecânica e térmica induzida pelo CFA ocorre liberação de TNF- α , IL-1 β e NGF (GARABEDIAN e cols., 1995; WOOLF; TRIVEDI, 2004). De acordo com Burstein e cols., (2004) um efeito antinociceptivo no modelo do CFA, ocorre pela inibição da síntese de mediadores pró-inflamatórios, como a ciclooxigenase 2, IL-1 β e a óxido nítrico sintase, via inibição do fator nuclear-kB. O modelo de CFA é caracterizado pela presença de um processo inflamatório (resposta de um tecido vivo e vascularizado a um agente infeccioso, a um antígeno ou mesmo a um estímulo irritante de natureza física, química ou traumática). Esta resposta se manifesta pela presença de vários fatores como rubor, calor, tumor (edema), dor e perda de função do tecido ou órgão afetado.

Neste modelo, tanto o EMB, fração AcOEt e substância pura PB2, não conseguiram reverter de maneira significativa o quadro de hipernocicepção de origem inflamatória persistente induzida pela injeção i.pl de CFA. Talvez as substâncias testadas não estejam atuando na inibição de uma ou mais vias envolvidas nesse processo, mas sim por outras.

Para aprofundar a avaliação antiinflamatória, da planta, no trabalho em questão foram utilizadas duas metodologias distintas o edema de pata e a pleurisia induzidos por diferentes agentes flogísticos.

A pleurisia, é uma metodologia que lesiona a cavidade pleural, quando injetado agentes flogísticos como Cg, BK, His e SP, PGs, dentre outros. Trata-se de uma reação muito similar ao que ocorre em consequência a infecções, inflamações ou doenças neoplásicas neste local (KROEGEL; ANTONY, 1997).

A pleurisia por Cg é modelo mais completo para investigar mecanismos envolvidos na inflamação aguda, seja substâncias em eventos celulares quanto vasculares do processo inflamatório, bem como no desenvolvimento de drogas antiinflamatórias (DI ROSA e cols., 1985; PASSOS e cols., 2006). Após a injeção i.ple de Cg, esta é absorvida pela pleura causando danos no tecido das células, liberando enzimas vasoativas, gerando um aumento da permeabilidade vascular e no desenvolvimento de edema no tecido subpleural. A subsequente fagocitose da Cg pelos neutrófilos resulta em degranulação e liberação de enzimas lisossomais decorrentes do aumento da permeabilidade dos vasos. A síntese e a liberação de prostaglandinas vasoativas completa o desenvolvimento da primeira fase da exudação pleural. A segunda fase exudativa se desenvolve graças a ação de monócitos (VINEGAR e cols., 1985; DE SOUZA, 2003).

Os agentes flogísticos usados no presente estudo: Cg, BK, His e SP, estão envolvidos na resposta inflamatória promovendo o recrutamento de leucócitos e/ou exsudação por diferentes mecanismos. Sendo assim, são vários os mediadores químicos envolvidos e liberados do qual são difundidos para o tecido pleural e subpleural, resultando em ativação de várias células constitutivas, consequentemente aumentando o número de células inflamatórias (leucócitos) na cavidade pleural.

No modelo da pleurisia induzida pela Cg observa-se um aumento significativo da migração de leucócitos, referente aos neutrófilos após a administração do agente dentro da cavidade pleural de camundongos (SALEH; CALIXTO; MEDEIROS, 1997). A migração de leucócitos em resposta a um estímulo inflamatório envolve a interação dessas células com as moléculas de adesão (SCHMID-SCHONBEIN, 2006). Estudo realizado por Menegazzi e cols., (2005) demonstraram que a Cg induziu o aumento da expressão de moléculas de adesão do tipo ICAM- 1 no modelo da pleurisia induzida pela carragenina, em camundongos. A presença de neutrófilos é limitada. Um número significativo deles indica fase aguda de processo inflamatório. Ainda, o aparecimento de linfócitos e monócitos está ligado à doença inflamatória crônica, muitas vezes de caráter maligno. (KROGEL; ANTONY, 1997).

No presente estudo podemos observar que tanto o EMB como a fração AcOEt, agiram com efetividade sobre o processo inflamatório agudo induzido pela Cg no modelo de pleurisia. Todas as doses apresentaram inibição significativa da resposta, principalmente a dose de 100 mg/Kg, tanto para o extravasamento de fluídos, quanto para a migração de leucócitos, especialmente neutrófilos, para o sítio inflamatório. Sendo assim, podemos sugerir que ambas as substâncias estão atuando em uma ou várias das manifestações celulares e vasculares induzidas pela Cg na pleurisia, pontuando tanto o EMB, quanto a fração AcOEt, como possíveis substâncias com ação antiinflamatória.

A substância pura PB2 também foi efetiva em todos os eventos, porém a dose de 10 mg/Kg não surtiu efeito algum. Como já observado nos modelos de dor, também se pode observar que sua ação é fraca quando comparadas com a inibição obtida com o EMB e a fração AcOEt.

Na pleurisia induzida por Bradicinina, observou-se que o EMB produziu redução no número de leucócitos, em mononucleares e neutrófilos. A BK é um importante vasodilatador e modulador da reação inflamatória, sendo mediada por ativação de dois receptores chamados de B1 e B2, onde o receptor B2 é expresso constitutivamente na superfície celular e o receptor B1 só é expresso após danos tecidulares ou após produção da IL-1 atuando na dor crônica. Alguns estudos afirmam ainda que a BK em se tratando de reação inflamatória duradoura é dependente da quantidade deste

agente na cavidade pleural de camundongos, e este efeito é mediado por ativação de receptores B2 da BK (SALEH; CALIXTO; MEDEIROS, 1997). Nos resultados obtidos desse estudo, observou-se somente redução dos eventos na dose de 100mg/Kg, mesmo não havendo efeito dose dependente, há possibilidade de que o EMB possa estar antagonizando receptores B2 e conseqüentemente inibindo a ação da BK e os eventos da inflamação relacionados a ela. Entretanto, experimentos com antagonista específicos desses receptores são necessários para confirmação da hipótese.

No modelo de pleurisia induzida por histamina, observou-se que o EMB apenas reduziu o extravasamento vascular na cavidade pleural dos animais, na dose de 100 mg/Kg, porém reduziu a migração leucocitária de forma dose dependente. A histamina é um mediador envolvido na quimiotaxia celular e na exsudação, além da ativação de citocinas pró-inflamatórias como a interleucinas (JUTEL; BLASER; AKDIS, 2005; AKDIS; SIMONS, 2006; HASHIMOTO; OHATA; HONDA, 2006).

Estudos recentes de (MENEZES-DE-LIMA JR e cols., 2006), demonstraram que a histamina é um mediador direto do aumento da permeabilidade vascular e edema, provocando pequenos influxos de leucócitos. Neste estudo observou-se um pequeno extravasamento de fluídos na dose de 100 mg/Kg e uma redução de forma dose dependente das células migratórias, podendo sugerir que a ação do EBM pode estar atuando sobre receptores da histamina (H1) e/ou eventos inflamatórios induzidos por ela.

Esse modelo de inflamação também foi testado induzindo inflamação na pleura pela substância P. A SP é um potente mediador envolvido em diversas reações Inflamatórias, promovendo o aumento da permeabilidade vascular, a formação de edema, o aumento da expressão de moléculas de adesão em células endoteliais, a ativação de neutrófilos, além da contração da musculatura lisa (CHEN e cols., 2006).

Na pleurisia induzida por SP, o pré-tratamento com o EMB, provocou acentuada redução do extravasamento vascular, do número de leucócitos totais e neutrófilos de forma dose dependente. Quanto às células mononucleares o extrato da Sabe-se também que a substância P está envolvida na ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B), expressão de quimiocinas e quimiotaxia de neutrófilos na inflamação (OKAYA e cols., 2004). Levando-se em consideração que a SP tem seu efeito mediado por

receptores NK1 e NK3, promovendo influxo de leucócitos induzidos por TNF- α no modelo de inflamação cutânea em camundongos (FRODE-SALEH; CALIXTO; MEDEIROS, 1999), sugere-se que o EMB possa estar atuando no bloqueio destes receptores.

Podemos concluir para esse modelo que os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o EMB apresentou importante efeito antiinflamatório, pois inibiu de forma significativa os parâmetros inflamatórios como migração de leucócitos e exsudação, bem como a migração leucocitária induzida por Cg, BK, His e SP. Assim como também podemos concluir que a fração AcOEt e a substância pura PB2, apresentam efeito antiinflamatório quando analisados com o agente flogístico Cg, inibindo de forma significativa os parâmetros inflamatórios.

No modelo de pleurisia independente do agente flogístico utilizado, os resultados demonstraram que tanto o EMB, a fração AcOEt e a substância pura PB2 exibiram a propriedade de inibir várias fases do processo inflamatório como o edema, extravasamento de fluídos para a cavidade pleural, bem como a migração de eventos celulares, demonstrando assim evidências de ação antiinflamatória em processos agudos.

O presente estudo ainda aprofundou os estudos de Sharma e Gomes (1996) sobre a atividade antiedematogênica através do edema de pata induzido por vários agentes flogísticos. Além da avaliação do efeito antiedematogênico com Cg, como fizeram os autores utilizando a fração hexânica, no presente estudo utilizou-se também no modelo outros mediadores diferentes da carragenina.

O edema de pata induzido por Cg foi desenvolvido por Winter; Risley; Nuss, (1962). Trata-se de um modelo trifásico e muito utilizado nos estudos de inflamação. Entretanto, esse modelo não caracteriza o efeito antiinflamatório como um todo mas sim fornece resposta sobre o efeito em um dos sintomas do processo inflamatório, que é o extravasamento vascular (edema) (WINTER; RISLEY; NUSS, 1962). São vários mediadores que produzem essa resposta inflamatória, e são liberados de acordo com as fases do processo. Na primeira fase que acontece até uma hora ocorre a liberação de Histamina e Serotonina, na segunda fase ocorre liberação de BK e na última fase

que está entre 4 e 6 horas, há liberação de PGEs, pela ativação da COXs (LIMA, 1999; CALIXTO; CAMPOS, 2000; DE SOUZA e cols., 2004).

No presente estudo podemos observar que a dose de 100 mg/Kg tanto para o EMB quanto para a fração AcOEt, reduziu o tamanho do edema de pata induzido por Cg, desde a primeira hora, ficando essas duas substâncias com ação antiedematogênica muito similar. Sendo assim sugere-se que estes compostos podem estar inibindo a liberação de mediadores como a BK e de PGs, as quais são liberadas entre a 1 hora e 6 horas. Resultados estes que reforçam a fraca ação do EMB na inibição da His, quando comparados com os resultados da pleurisia induzida por His, onde só a dose de 100 mg/Kg reduziu, porém moderadamente o extravazamento vascular.

Já a substância pura PB2 apresentou inibição desde os primeiros 30 minutos, ficando muito similar a indometacina, sugerindo que além de inibirem a liberação de BK e PGs, também estão relacionados com a inibição de Histamina e serotonina.

Também foi observado que o EMB foi capaz de reduzir o edema induzido pela SP. O EMB, já produziu efeito a partir dos primeiros 60 minutos, em todas as doses e esta ação foi mantida ao longo do tempo.

A SP é um peptídeo que faz parte da família das taquicininas, juntamente com a Neurocinina A, Neurocinina B, Neuropetídeo K (O'CONNOR e cols., 2004). Essa substância é secretada por nervos e células como macrófagos, eosinófilos, linfócitos, atuando em vários receptores farmacológicos, especialmente o receptor NK1 (HILL; OLIVER, 2007). Estudos demonstraram que a SP juntamente com a neurocinina A, estão envolvidos em processos inflamatórios, como a formação do edema e extravazamento de proteína (SATAKE; KAWADA, 2006).

Desta forma, a inibição do edema induzido pela SP pelo EMB pode sugerir que nesse extrato, princípios ativos específicos possam estar atuando como agentes antagonistas dos receptores de SP. Entretanto, estudos mais apurados e específicos são necessários para determinar o mecanismo de ação específico do EMB da planta em estudo.

Outro agente flogístico utilizado no presente estudo foi a BK. BK e cininas correlacionadas formam um grupo de potentes peptídeos os quais são caracterizados

como mediadores dos processos doloroso e inflamatório (CABRINI e cols., 2001), atuando através de receptores metabotrópicos do tipo B1 e B2. O receptor B2 pode promover além de vasodilatação, dor e aumento da permeabilidade vascular o aumento de PGE2 e NO⁻. (FERREIRA; CAMPOS; CALIXTO, 2000). Já os receptores B1 quando ativados por metabólitos das cininas, promovem a sustentação do estímulo doloroso e inflamatório, via ativação do NF_κB e glicocorticóides endógenos (CABRINI e cols., 2001).

Os resultados obtidos nesse trabalho, demonstraram que houve redução do edema induzido por BK, apenas na dose de 100 mg/Kg, após 60 minutos da indução. Os resultados sugerem que o extrato em questão pode estar interferindo nos receptores de BK, inibindo sua liberação, uma vez que o extrato reduziu o edema de pata induzido pela Cg no período de tempo em que ocorre a liberação da BK.

No mesmo modelo, porém com a indução do edema pela Histamina, pode-se observar que houve redução do edema, com o EMB, já nos primeiros 15 minutos com as doses de 50mg/Kg e 100 mg/Kg e essa ação antiedematogênica continuou ao longo do tempo. Resultados esses que sugerem uma acentuada ação antiedematogênica do EMB sobre esse agente flogístico, podendo esta estar atuando sobre os receptores H1, similar a possível ação antiinflamatória encontrada na pleurisia induzida também por histamina. A histamina é um mediador envolvido na quimiotaxia e na exudação, provocando pequeno influxo de leucócitos, além da ativação de citocinas inflamatórias como as interleucinas e na contração da musculatura lisa (AKDIS; SIMONS, 2006; HASHIMOTO; OHATA; HONDA, 2006)

Os resultados observados no modelo de edema induzido por diferentes agentes flogísticos estendem aqueles obtidos por Besra; Sharma; Gomes, (1996), onde a dose de 100 mg/Kg do extrato hexano das folhas de *Litchi chinenses* obteve uma redução de 59% no edema de pata induzido por carragenina.

Ainda neste trabalho observou-se que não houve interferência na performance motora dos animais avaliados através do modelo de hota rod. Esse modelo é utilizado para que seja descartada possibilidades das substâncias testadas estarem ocasionando alterações motoras não desejáveis, representando resultados falso-positivo.

Os resultados apresentados nesse trabalho demonstram pronunciada ação antinociceptiva e antiinflamatória do EMB, fração AcOEt e substância pura PB2, sugerindo assim a necessidade de estudos adicionais com a finalidade de avaliar os mecanismos envolvidos nestes efeitos.

São poucos os dados encontrados na literatura referente às folhas da planta em estudo. O que podemos encontrar de mais recente sobre as possíveis substâncias responsáveis pelas ações farmacológicas da *Litchi chinenses* soon, se encontram em Duan e cols., (2007), Liu e cols., (2007), onde demonstraram que os frutos desta planta apresentam elevado teor de flavonóides. Deste grupo destacam-se as antocianidinas como a procianidina B2. Em nossos estudos, PB2 também foi encontrada nas folhas da *Litchi chinenses* (Vanolli e cols., 2008), sendo esta isolada da fração acetato de etila.

Os flavonóides têm suas propriedades farmacológicas já bem definidas participando em atividades antivirais, antioxidante, antiinflamatória, atividade antitumoral, hormonal e sobre a permeabilidade capilar (SIMÕES e cols., 2004). A substância isolada PB2 também já possui algumas atividades comprovadas, como ação vasoprotetora, antiagregante plaquetária, antioxidante, anti-hepatotóxico, anti-tumoral, anti-viral e protetora em relação a aterosclerose (BISSET; HOUGHTON; HYLANDS, 1991; CHENG e cols.; RIEDL e cols., 1998; MIYAMOTO e cols., 1998; DUARTE, 1999

A atividade antioxidante apresentada por flavonóides e, particularmente pela substância pura PB2 podem estar contribuindo para as ações farmacológicas (antinociceptiva e antiinflamatória) encontradas no presente trabalho. Em se tratando do efeito antinociceptivo especificamente, Dalbó e cols., (2006) avaliando uma fração de flavonóides rica em procianidinas, denominada de fração 63SF verificaram que a mesma exibiu potente efeito antinociceptivo em modelos de nocicepção aguda como o teste da formalina e capsaicina. Além disso, os autores estudaram o possível mecanismo de ação da fração, avaliando sistemas neuromoduladores do processo doloroso como os sistemas, adrenérgico, serotoninérgico, dopaminérgico dentre outros. Os autores verificaram que a fração (63SF) exerce efeitos antinociceptivo, reforçando a atividade das vias neuromodulatórias descendentes do processo doloroso,

possivelmente pela estimulação direta dos receptores dopaminérgicos D2 (DALBÓ e cols., 2006).

Os resultados deste trabalho confirmam mais uma vez a importância da avaliação de plantas medicinais, na busca de alternativas farmacológicas para o tratamento da dor e inflamação, as quais são fontes de uma variedade de compostos com potencial atividade biológica. Além disso, os resultados obtidos subsidiam a continuidade do estudo, visando desvendar além do mecanismo de ação da substância pura PB2, obter outras eventuais substâncias com essas e outras ações farmacológicas. Tendo em vista que a substância pura PB2 testada, apresentou menor atividade que o EMB e a fração AcOEt testados.

7 CONCLUSÃO

- ❖ Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que, tanto o EMB, como a fração AcOEt, apresentaram ação antinociceptiva quando administrados oralmente em camundongos, principalmente nas doses de 100 mg/Kg, sugerindo assim uma possível ação antinociceptiva, mais acentuada na dor de origem inflamatória, porém a substância pura PB2 se mostrou mais efetiva na dor de origem neurogênica.

- ❖ Nos modelos utilizados para verificar a propriedade antiinflamatória, o EMB e a fração AcOEt apresentaram atividade antiinflamatória no modelo de edema de pata e pleurisia, sendo a dose de 100 mg/Kg a que produziu melhor efeito. A substância pura PB2 também demonstrou atividade antiinflamatória e antiedematogênica na dose de 6 mg/Kg, porém os mecanismos envolvidos nestes efeitos não foram esclarecidos.

- ❖ Os resultados apresentados nesse trabalho demonstram pronunciada ação antinociceptiva e antiinflamatória do EMB, fração AcOEt e a substância pura PB2, sugerindo assim a necessidade de estudos adicionais com a finalidade de avaliar os mecanismos envolvidos nestes efeitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKDIS, C.A.; SIMONS, F.E. Histamine receptors are hot in immunopharmacology. **European Journal of Pharmacology.**, v. 533, p. 69-76, 2006.

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

ALON, R.; FUHLBRIGGE, R.C.; FINGER, E.B.; SPRINGER, T.A Interactions through L-selectin between leukocytes and adherent leukocytes nucleate rolling adhesions on selectins and VCAM1 in shear flow. **Journal of Cell Biology.**, v. 135, p. 849-865, 1996.

ANKIER SI. New hot plate test to quantify antinociceptive and narcotic-antagonist activities. **European Journal of Pharmacology.**, v. 27, p. 1-4, 1974.

ANSEL, J.C.; BROWN, J.R.; PAYAN, D.G.; BROWN, M.A. Substance P selectively activates TNF-alpha gene expression in murine mast cells. **Journal of Immunology.**, v. 150, p. 4478-4485, 1993.

BARED SAFIEH-GARABEDIAN, B. S.; POOLE, S.; ALLCHORNE, A.; KANAAN, S.; SAADE, N.; WOOLF, C. J. Zinc Reduces the Hyperalgesia and Upregulation of NGF and IL-1 β Produced by Peripheral Inflammation in the Rat. **Neuropharmacology.**, v. 35, p. 599-603, 1996.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; CALIXTO, J.B. Mechanisms underlying the nociception and paw odema 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 fibre in glutamate-induced nociception and paw oedema in mice. **Brain Research.**, v. 969, p.110-116, 2003.

BELCH, J.J.F.; HILL, A. Evening primrose oil and borage oil in rheumatologic conditions. **American Journal of Clinical Nutrition.**, v. 71, p. 352s, 2000.

BESRA, S.E; SHARMA, R.M; GOMES, A. Antiinflammatory effect of petroleum ether extract of leaves of *Litchi chinensis* Gaertn. (Sapindaceae). **Journal of Ethnopharmacology.**, v. 54, 1996.

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

BESSON, M.J.; DICKENSON, A. **The Pharmacology of Pain.**, v 130, p. 21-41, 1997.

BHoola, K.D.; FIGUEROA, C.D.; WORTHY, K. Bioregulation of Kinins: Kallikreins, Kininogens, and Kininases. **Pharmacological Review.**, v. 44, p. 22-80, 1992.

BILLIAU, A.; MATTHYS, P. Models of action of Freund's Adjuvant in experimental models of autoimmune disease. **Journal of Leukocyte Biology.**, v. 70, p. 846-860, 2001.

BISSET, N. G.; HOUGHTON, P. J.; HYLANDS, P. J. Some current trends in medicinal plant research. In: **The Medical Plant Industry.**, 1991.

BLANE, G.F. Blokade of bradikinin induced nociception in the rat as a test for analgesic drugs with particular reference to morphine antagonists. **Journal of Pharmacology.**, v. 19, p. 367 – 373, 1967

BONFÁ, L.; VINAGRE, R. C. O.; FIGUEIREDO, N. V. Uso de canabinóides na dor crônica e em cuidados paliativos. **Revista Brasileira de Anestesiologia.**, v. 58, p. 267 – 279, 2008.

BOTTING, R. M. Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3?. **Clinical infectious disease.**, v. 31, p. 201-210, 2000.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Ciências farmacêuticas:** contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. Itajaí: Univali, 2003.

BREYER, R.M.; BAGDASSARIAN, C.K.; MYERS, S.A.; BREYER, M.D. Prostanoid receptors: subtypes and signaling. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology.**, v. 41, p. 661-690, 2001.

BRUNEE, T.; LA PORTA, C.; REDDIGARI, S.R. Activation of factor XI in plasma is dependent on factor XII. **Blood.**, v. 81, p. 580-586, 1993.

CABRINI, D.A.; CAMPOS, M.M.; TRATSK, K.S.; MERINO, V.F.; SILVA JR, J.A.; SOUZA, G.E.P.; AVELLAR, M.C.W.; PESQUERO, J.B.; CALIXTO, J.B. Molecular and pharmacological evidence for modulation of kinin B1 receptor expression by endogenous glucocorticoids hormones in rats. **British Journal of Pharmacology.**, v. 132, p. 567-577, 2001.

CALIXTO, J.B.; CAMPOS, M.M. Neurokinin mediation of edema and inflammation. **Neuropeptides.**, v. 34, p. 314-322, 2000.

CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Involvement of B1 or B2 receptors in bradykinin-induced rat paw oedema. **British Journal of Pharmacology.**, p. 1005-1013, 1995.

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

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

CARRAWAY, M.S.; WELTY-WOLF, K.E.; MILLER, D.L. Blockade of tissue factor: treatment for organ injury in established sepsis. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.**, v. 167, p. 1200-1209, 2003.

CARVALHO, C. M.; CUNHA, R.J. P.; RODRIGUES, J. D. Rooting of semi-hardwood litchi cuttings using indolbutiric acid. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, v. 27, 2005.

CARVALHO, W.A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. Modulação periférica e avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia.**, v. 48, p.137-158, 1998^a.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIGFAR/UNIVALI. **Química Nova.**, v. 23, p. 680-685, 2000.

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

CHEN, W.; SHIH, C., LU, W.; LI, P.; CHEN, C.; HAYAKAWA, S.; SHIMIZU, K.; CHIEN, C.. Combination of Wu Lin San and Shan Zha ameliorates substance P-induced hyperactive bladder via the inhibition of neutrophil NADPH oxidase activity. **Neuroscience Letters.**, v. 402, p. 7-11, 2006.

CHENG, J. T. e cols., Antihypertensive principles from the leaves of *Melastoma candidum*. **Planta Medica.**, v. 59, p. 405-407, 1983.

CHYAUUA, Charng-Cherng., KOB, Pei-Tzu.; CHANGA, Chi-Huarng.; MAUB, Jeng-Leun. Free and glycosidically bound aroma compounds in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) **Department of Food Nutrition.**, v. 80, p. 387-392, 2003.

CIRINO, G. Multiple controls in inflammation. **Biochemical of Pharmacology.**, v. 55, p. 105-111, 1998.

CLEMENZA, L.; DIELI, F., CICARDI, M; Salerno, A. Research on complement old issues revisited and a novel sphere of influence. **Trends in Immunology.**, v. 24, p. 292-296, 2003.

COLE, D.S., MORGAN, B.P. Beyond lysis: how complement influences cell fate. **Clinical Science.**, v. 104, p. 455-466, 2003.

CORREA, L. Classificação das inflamações. Disponível em: <<http://www.fo.usp.br/lido/patoartegeral/patoarteinfl9.htm>>. Acessado em 05/05/2008.

COVAS, M.J.; PINTO, L.A.; VICTORINO, R.M. Disturbed immunoregulatory properties of the neuropeptide substance P on lymphocyte proliferation in HIV infection. **Clinic Experimental Immunology.**, v. 96, p. 384-388, 1994.

COUTAUX, A.; ADAM, F.; WILLER, J.C.; LE BARS, D. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms. **Joint Bone Spine.**, v. 72, p. 359-371, 2005.

COUTINHO, D.F.; TRAVASSOS, L.M.A.; AMARAL, F.M.M. Estudo Etnobotânico de plantas medicinais utilizadas em comunidades indígenas no estado do Maranhão – Brasil. **Visão Acadêmica.**, v. 3, 2002.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista. Virtual Química.**, v. 1(3), p. 241-256. Data de publicação na Web: 26 de Julho de 2009. <http://www.uff.br/RVQ>.

CRAIG, F. "HowStuffWorks - *Como funciona a dor*". Publicado em 09 de novembro de 2007 (atualizado em 28 de dezembro de 2007) <http://saude.hsw.uol.com.br/dor6.htm> (22 de março de 2010).

DA SILVA K.L.; DOS SANTOS, A.R.; MATTOS, P.E.; YUNES, R. A.; DELLE-MONACHE, F.; CECHINEL-FILHO, V. Chemical composition and analgesic activity of *Calophyllum brasiliense* leaves. **Therapie.**, v. 56(4), p. 431-4, 2001.

DALBO, S.; JURGENSEN, S.; HORST, H.; SOETHE, D.N.; SANTOS, A.R.; PIZZOLATTI, M.G.; RIBEIRO-DO-VALLE, 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 Biochemical Behavior.**, v. 5, p. 317-323, 2006.

DANNHARDT, G.; KIEFER, W. Cyclooxygenase inhibitors. – current status and future prospects. **European Journal of Medicine.**, v. 36, p. 109-126, 2001.

De SOUZA, M.M. e cols. Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br. **Journal of Ethnopharmacology.**, v. 69, p. 85-90, 2000.

De SOUZA, R.F.; De GIOVANI, W.F. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report.**, v.9, n.2, p.97-104, 2004.

De SOUZA, M.M.; BELLA CRUZ, A.; SCHUHMACHER, M.B.; KREUGER, M.R.O.; DE FREITAS, R.A.; BELLA CRUZ, R.C. **Métodos de avaliação de atividade biológica de produtos naturais e sintéticos.** In: BELLÉ BRESOLIN, T.M.; CECHINEL FILHO, V. Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos. 1 ed. Itajaí: UNIVALI, cap. 3, p. 119-131, 2003.

DEMLING, R.H.; HARMS, B.; KRAMER, G.; GUNTHER, R. Acute versus sustained hypoproteinemia and posttraumatic pulmonary edema. **Surgery.**, v. 92, p. 79-86, 1982.

DEMLING, R.H.; KRAMER, G.; HARMS, B. role of thermal injury-induced hypoproteinemia on fluid flux and protein permeability in burned and nonburned tissue. **Surgery.**, v. 95, p. 136-144, 1984.

DENZLINGER, C.; RAPP, S.; HAGMANN, W.; KEPPLER, D. Leukotrienes as mediators of tissue trauma. **Science.**, v. 230, p. 330-332, 1985.

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. In: OTTERNESS, I.G.; BLIVEN, M.L. Laboratory Models for testing nonsteroidal anti-inflammatory drugs. 3 ed. Groton: Department of Immunology and Infectious Disease, Central Research Division, Pfizer Inc. **Journal of Pathology.**, v. 104, p. 15, 1971, 1985.

DICKENSON, A. Mechanisms of central hypersensitivity: excitatory amino acid mechanisms and their control. In: BESSON, M.J.; DICKENSON, A. **The Pharmacology of Pain.**, v. 130, p. 21-41, 1999.

DIRKS, J.; FREDENSBORG, B. B.; CHRISTENSEN, D. A randomized study of the effects of single-dose gabapentin versus placebo on postoperative pain and morphine consumption after mastectomy. **Anesthesiology.**, v. 97, p. 560-564, 2002.

DRAY, A. Peripheral mediator of pain. In: **The Pharmacology of Pain.**, p. 21-41, 1997.

DUAN, Xuewu.; JIANG, Yueming.; SU, Xinguo.; ZHANG, Zhaogi., SHI, John. Antioxidant properties of anthocyanins extracted from litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit pericarp tissues in relation to their role in the pericarp browning. **Food Chemistry.**, v. 101, p. 1365–1371, 2007

DUARTE, N. M. Contribuição para o estudo do pó de cortiça e da cortiça: Extração de proantocianidinas. **Tese de Mestrado em Química Farmacêutica**, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, 1999.

DUBUISSON, D. & S.G. DENNIS. 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.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, DAS GRAÇAS M. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.**, v. 39, 2003.

DWORSKI, R.; SHELLER, J.R. Differential sensitivities of human blood monocytes and alveolar macrophages to the inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase – 2 by interleukin – 4. **Prostaglandins.**, v. 53, p. 237 – 251, 1997.

FENG, N.; YE, W.; WU, P.; HUANG, Y.; XIE, H.; WEI, X. Two new antifungal alkaloids produced by *Istreptovercillium morookaense*. **Journal of Antibiotic.**, v. 60, p. 179-83, 2007.

FERREIRA, P.K.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. The role of sensorial neuropeptides in the edematogenic responses mediated by B(1) agonist des-Arg (9)BK in rats pre-treated with LPS. **Regul Peptides.**, v 89, p. 29-35, 2000.

FERREIRA, A.A.; AMARAL, F.A.; DUARTE, I.D.G.; OLIVEIRA, P.M.; ALVES, R.B.; SILVEIRA, D.; AZEVEDO, A.O.; RASLAN, D.S.; CASTRO, M.S.A. Antinociceptive effect from *Ipomoea cairica* extract. **Journal of Ethnopharmacology.**, v. 105, p. 148-153, 2006.

FERRELL, BA.; FERRELL, BR.; OSTERWEIL, D. Pain in the nursing home. **Journal American of Geriatric Sociate.**, v. 38, p. 409-14, 1990.

FIELDS, H.; BASBAUM, A.I. Central nervous system mechanism of pain modulation. In: WALL, P.D.; MELZACK, R. **Textbook of Pain.** 3 ed. Edinburg: Churchill Livingstone, p. 243-257, 1994.

FISCHER, L. G.; SANTOS, D.; SERAFIN, C.; MALHEIROS, A.; DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; CECHINEL FILHO, V.; de SOUZA, M. M. Further Antinociceptive Properties of Extracts and Phenolic Compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) Leaves (Pharmacology) **Biological & Pharmaceutical Bulletin.**, v. 31(2), p. 235-239, 2008.

FISHELSON, Z. Complement C3: a molecular mosaic of binding sites. **Molecular Immunology.**, v. 28, p. 545-552, 1991.

FRÖDE-SALEH, T.S.; CALIXTO, J.B.; MEDEIROS, Y.S. Analysis of the inflammatory response induced by substance P in the mouse pleural cavity. **Peptides.**, v. 20, p. 259-265, 1999.

FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B.C. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 15, p. 152-153, 2006.

GERARD C., ROLLINS B.J. Chemokines and disease. **Nature Immunology.**, v.2, p.108-115, 2001.

GILBERT, A. K.; HOSZTAFI, S.; MAHURTER, L.; PASTERNAK, G. W. Pharmacological characterization of dihydromorphine, 6-acetyldihydromorphine and dihydroheroin analgesia and it differentiation from morphine. **Europe Journal of Pharmacology.**, v. 25, p. 123-130, 2004.

GILBERT e cols. Glicocorticóides (GC) e as doenças reumáticas do idoso: considerações gerais. **Temas de Reumatologia.** v. 9, 2008

GILRON, I.; WATSON, C. P. N.; CAHILL, C. M.; MOULIN, D. E. Review: Neuropathic pain: a practical guide for the clinician. **Canadian Medical Association Journal.**, v. 175(3), p. 265-75, 2006.

GOADSBY, P. J.; LIPTON, R. B.; FERRARI, M. D. Migraine: current understanding and treatment. **New England Journal of Medical.**, v. 336, p. 257-270, 2002.

GOMES e cols. Interleucina-6, moléculas de adesão intercelular-1 e microalbuminúria na avaliação da lesão endotelial. Artigo de Atualização. **Revisão: Sociedade de Cardiologia do Estado Rio de Janeiro.**, v. 22(6), p. 398-403, 2009.

GONZÁLEZ-PÉRIZ, A.; CLÀRIA, J. New approaches to the modulation of the cyclooxygenase-2 and 5- lipoxygenase pathways. **Current Topics in Medicinal Chemistry.**, v. 7, p. 1-13, 2007.

GOZZANI, J.L. Fisiopatologia da dor. In: Dor – Cavalcanti, I.L. Maddalena, M.L Rio de Janeiro. **Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro.**, p. 13-51, 2003.

GRUBB, B.D. Peripheral and central mechanisms of pain. **British Journal of Anesthesiology.**, v. 81, p. 8-11, 1988.

HALL, J.M., MORTON, I.K.M., 1997. The pharmacology and immunopharmacology of kinin receptors. In: FARMER, S.G. **The Handbook of Immunopharmacology: The kinin System.**, p. 9-43, 1997.

HASHIMOTO; OHATA;HONDA. Lysophosphatidic acid (LPA) induces plasma exudation and histamine release in mice via LPA receptors. **Journal of Pharmacological Sciences.**, v. 100, p. 82-87, 2006.

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

HENRIQUES, M. G. e cols., Differential inhibition by two tetrazepine PAF antagonist of acute inflammation in mouse. **British Journal of Pharmacology.**, p 164-168, 1990.

HERBERT, M.K.; JUST, H.; SCHMIDT, R.F. Histamine excites groups III and afferents from the cat knee joint depending on their resting activity. **Neuroscience Letter.**, v. 305, p. 95-98, 2001.

HESS, S. Atividade antinociceptiva do ácido mirsinóico B. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, Itajaí, 2006.

HEVKO, J.M.; MURPHY, R.C. Electrospray Ionization and Tandem Mass Spectrometry of Cysteinyl Eicosanoids: Leukotriene C4 and FOG7. **Journal of American society for mass spectrometry.**, v. 12, p. 763-771, 2001.

HILL, R.G.; OLIVER, K .R. Neuropeptide and kinin antagonists. **Handb Experimental of Pharmacology.**, v. 177, p 181-216, 2007.

HO, W.Z.; KAUFMANN, D.; UVAYDOVA, M.; DOUGLAS, S.D. Substance P augments interleukin-10 and tumor necrosis factor- α release by human cord blood monocytes and macrophages. **Journal of Neuroimmunology**, v. 71, p. 73-80, 1996.

HOLZER, P. Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, selectivity for thin sensory neurons. **Pharmacology Review**, v. 43, p. 143-201, 1991

HOLZER, P.; HOLZER-PETSCHKE, U. Tachykinins in the gut. Part II. Roles in neural excitation, secretion, and inflammation. **Pharmacology Therapy**, v. 73, p. 219-263, 1997.

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

HUNT, S.P.; MANTYP, P.W. The molecular dynamics of pain control. **Nature Review Neurosciency**, v.2, p.83-91, 2001.

IKEDA, Y.; UENO A.; NARABA, H.; OH-ISHI. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanooids in the acid-induced writhing responses of mice. **Life Science**, v.69, p.2911-2919, 2001.

JABBUR, S.J.; SAADÉ, N.E. From aletrical wiring to plastic neurons: evolving approaches to the inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 87-92, 1999.

JAMES, S.L. Role of nitric oxide in parasitic infections. **Microbiology Review**, v. 59(4), p. 533-47, 1995.

JAN, R. A.; VISCUSI, E. R. Spinal opioids. A Review. **The International Journal of Pain Medicinal and Palliative Care**, v. 3, p. 90-102, 2003.

JANSEN e cols. Role of endothelium and nitric oxide in histamine-induced responses in human arteries and detection of mRNA encoding H1-and H2-receptors by RT-PCR. **British Journal of Pharmacology**, v. 121, p. 41-48, 1997.

JOOS, G.F.; GERMONPRE, P.R.; PAUWELS, R.A. Role of tachykinins in asthma. **Allergy**, v. 55, p. 321-337, 2000.

JUTEL, M.; BLASER, K.; AKDIS, C.A. Histamine in allergic inflammation and immune modulation. **International Arch of Allergy Immunology**, v. 137, p. 82-92, 2005.

KAM, P.C.A.; SEE, A.U.L. Cyclo-oxygenase isoenzymes: physiological and pharmacological role. **Anaesthesia**, v. 55, p. 442-449, 2000.

KILGORE, K.S.; WARD, P.A.; WARREN, J.S Neutrophil adhesion to human endothelial cells is induced by the membrane attack complex: The role of P-selectin and platelet activating factor. **Inflammation**, v. 22, p. 583 – 597, 1998.

KOSTER, R.; ANDERSONS M.; DEBEER, E.J. – Acetic acid analgesic screening. **Federation Proceedings.**, v. 18, p. 418-420, 1959.

KONRAD, H. **Dor.** Disponível em: <http://www.saudeemmovimento.com.br/conteudos/conteudo_frame.asp?cod_noticia=43?>. Acessado em 05/05/2008.

KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. **Revista Brasileira Reumatologia.** [online]., v. 46, p. 199 – 206, 2006.

KROEGEL, C.; ANTONY, V.B. Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. **European Respiratory Journal.**, v. 10, p. 2411-2418, 1997.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Patologia:** bases patológicas das doenças. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. Chemical Composition and Antinociceptive Properties of *Hyeronima alchorneoides*. Leaves. **Pharmaceutical Biology.**, v. 43, p. 573-578, 2005.

Le BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S.W. Animals models of nociception. **Pharmacology Review.**, v.53, n.4, p.597-652, 2001.

JULIUS D; BASBAUM, Al. Molecular mechanisms of nociception. **Nature.**, v. 413 (6852), p. 203-10, 2001.

LEVINE; J. Signal Transduction and Second Messenger Signaling in Pain Sensory Neurons; CNS Pain Control Mechanisms; Neural-Endocrine Control of Inflammation. **Biochimic and Biophysic.**, v. 1772, p. 989-1003, 1999.

LI, J.; JIANG, Y. Litchi flavonoids: isolation, identification and biological activity. **Molecules.**, v. 11:12(4), p. 745-58, 2007.

LIEW, F.Y. The role of innate cytokines in inflammatory response. **Immunology Letter.**, v. 12, p. 745-758, 2003.

LIMA, K. V. B. Estudo da atividade antiinflamatória do extrato hidroalcoólico de *Cissampelos sympodialis* Eich (Menispermaceae) em diferentes modelos experimentais. **Centro de Ciências da Saúde/LTF**, UFPB, João Pessoa, p. 14-32, 1999.

LIU, L.; CAO, S.; XIE, B.; SUN, Z.; LI, X.; MIAO, W. Characterization of polyphenol oxidase from litchi pericarp using epicatechin as substrate. **Journal Agricultural Food Chemistry.** Aug 22;55 (17):7140-3, 2007.

LOESER, J.D.; MELZACK, R. Pain: an overviw. **Lancet.**, v. 53. p. 1607-1609, 1999.

LOPES, N.P. Química e atividade biológica da Arnica Brasileira (*Lychnophora ericoides*). **Biológico.**, v. 65, p. 67, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil** : nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

LOSEL, R.M.; FALKENSTEIN, E.; FEURING M.; SCHULTZ A.; TILLMANN HC.; ROSSOL-HASEROTH, K. Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. **Physiology.**, v. 83(3), p. 965-1016, 2003.

MAIZELS, M.; MCCARBERG, B. Antidepressants and antiepileptic drugs for chronic non-cancer pain. **American Family Physician.** , v. 71, p. 483-490, 2005.

MALMBERG , A.B.; YAKSH, T.L. Capsaicin-evoked prostaglandin E2 release in spinal cord slice: Relative effect of cyclooxygenase inhibitors. **European Journal of Pharmacology.**, v. 271, p 293-299, 1994.

MANCINI, J.A.; BOOD, K.; GUAY, J.; GORDON, R.; CLAVEAU, D.; CHAN, C.C.; RIENDEAU, D. Cloning, expression, and up-regulation of inducible rat prostaglandin E synthase during lipopolysaccharide-induced pyresis and adjuvant-induced arthritis. **J. Biology. Chemistry.**, v. 276, p. 4469-4475, 2001.

MAO, J.; CHEN, L. L. Systemic lidocaine for neuropathic pain relief. Review article. **Pain.**, v. 87, p. 7-17, 2000.

MARLETTA, M. A.; YOON, P. S.; IYENGAR, R.; LEAF C. D.; WISHNOK J. S. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: Nitric oxide is an intermediate. **Biochemistry.**, v. 27, p. 8706-8711, 1998.

MARTINS, A.B.G. Lichia. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, v. 27, p. 349 – 520, 2005.

MATSUKAWA, A.; YOSHINAGA, M. Sequential generation of cytokines during the initiative phase of inflammation, with reference to neutrophils. **Inflammation Research.**, v. 47(3), p. 7-144, 1998.

MATTOS, W.M.; CAMPOS, M.M.; FERNANDES, E.S.; RICHETTI, G.P.; NIERO, R.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Anti-edematogenic effects of velutinol A isolated from *Mandevilla velutina*: evidence for a selective inhibition of kinin B1 receptor-mediated responses. **Regul Peptides.**, v 136, n 1-3, p 98-104, 2006.

MCKAY, LI.; CIDLOWSKI, JA. CBP (CREB binding protein) integrates NF-kappaB (nuclear factor-kappaB) and glucocorticoid receptor physical interactions and antagonism. **Molecular and Endocrinology.**, v. 14(8), p. 1222-34, 2000.

MENEGAZZI, M., DI PAOLA, R., MAZZON, E., MUIÀ, C., GENOVESE, T. CRISAFULLI, C., SUZUKI, H., CUZZOCREA, S. 2005. Hypericum perforatum attenuates the development of carrageenan-induced lung injury in mice. *Free Radical Biology & Medicine*, 40: 740-753.

MENEZES-DE-LIMA JR, O.; KASSUYA, C.A.L.; NASCIMENTO, A.F.Z.; HENRIQUES, M.G.M.O.; CALIXTO, J.B. Lipoxin A4 inhibits acute edema in mice: Implications for the anti-edematogenic mechanism induced by aspirin. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators.**, v. 80, p. 123-135, 2006.

MILLAN, M.J. The induction of pain: na integrative review. **Progress in Neurobiology.**, v. 57, p. 164, 1999.

MIYAMOTO, K.; MURAYAMA, T.; HATANO, T.; YOSHIDA, T.; OKUDA, T. Host-mediated anticancer activities of tannins. **Third Tannin Conference.**, p. 137-138, 1998.

MONJISON, T.; GASQUE, P.; ISCHENKO, A.; FONTAINE, M. C3A binds to the seven transmembrane anaphylatoxin receptor expressed by epithelial cells and triggers the production of IL-8. **Federation of European Biochemical Societies letters.**, v. 487, p. 339-346, 2001.

NAVARO, F.D e cols. Phytochemical Analysis and Analgesic Properties of *Curcuma zedoaria* Grown in Brasil. Universidade do Vale do Itajaí. Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas – NIQFAR/CCS/UNIVALI. Catálogo de Produção Científica. **Phytomedicine.**, 9: 427-432, 2002.

NAVARRO, D.; PAMPLONA, C. R.; DE SOUZA, M. M.; MACHADO M. D. A. S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F.; NIERO, R. Seasonal variation and analgesic properties of different parts from *Curcuma zedoaria* Roscoe (Zingiberaceae) grown in Brazil. **Z Naturforsch C.**, v. 61(1-2), p. 6-10, 2006.

NICHOLSON, S.; ALMEIDA, M. G. B.; SILVA, J. R. L.; NATHAN, C.; XIE, Q.; MUMFORD, R.; WEIDNER, JR.; CALAYCAY, J.; GENG, J.; BOECHAT, N.; LINHARES, C.; ROM, W.; HO, J. L. Inducible nitric oxide synthase in pulmonary alveolar macrophages from patients with tuberculosis. **Journal of Experimental Medicini.**, v. 183, p. 2293-2302, 1996.

NIERO, R. e cols., A New anti-oedematogenic Nor-pregnane derivate isolated from *Mandevilla illustris*. **Planta Medica.**, p. 850-853, 2002.

NIERO, R.; MAFRA, A. P.; LENZI, A. C.; CECHINEL-FILHO, V.; TISCHER, C. A.; MALHEIROS, A.; DE SOUZA, M. M.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F. A new triterpene with antinociceptive activity from *Maytenus robusta*. **Natural Products Reseach.**, v. 20(14), p. 1315-20, 2006.

O'CONNOR, T.M.; O'CONNELL, J.; O'BRIEN, D.I.; GOODE, T.; BREDIN, C.P.; SHANAHAN, F.. The role of substance P in inflammatory disease. **Journal of Cellular Physiology.**, v. 201, p. 167-180, 2004.

OKAYA, T., HOLTHAUS, R., KATO, A., LENTSCH, A.B. Involvement of the neuropeptide substance P in lung inflammation induced by hepatic ischemia/reperfusion. **Inflammation Research.**, v. 53, p. 257-261, 2004.

OKABE, T.; HIDE, M.; KORO, O.; YAMAMOTO, S. Substance P induces tumor necrosis factor-release from human skin via mitogen-activated protein Kinase. **European Journal of Pharmacology.**, v. 389, p. 309-315, 2000.

OLIVEIRA, D. P. C.; BORRÁS, M. R. L.; FERREIRA, L. C. L.; LOZANO, J. L. L. Atividade antiinflamatória do extrato aquoso de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl. sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas. Revista Brasileira de Farmacognosia. **Brazilian Journal of Pharmacognosy.**, v. 19(2B), p. 643-649, 2009.

OLIVEIRA, L.F. **Fisiopatologia da dor**. In: Dor- Cavalcanti, I.L Madalena, M.L. Rio de Janeiro: Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro. p. 37-52, 2003.

OLIVIERA, A. S.; TORRES, H. P. O papel dos bloqueios anestésicos no tratamento da dor de origem cancerosa. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, n. 5, p. 654-662, 2003.

OPAL, S.M.; DEPALO, V.A. Anti-inflammatory cytokines. **Impact of Basic Research on Tomorrow's Medicine.**, v. 117, p. 1162-1172, 2000.

PANGBURN, M.K.; RAWAL, N. Structure and function of complement C5 convertase enzymes. **Biochemical Society Transactions.**, v. 30(part 6), p. 6-10, 2002.

PARKER, A.G.; PERAZA, G.G.; SENA, J.; SILVA, E.S.; SOARES, M.C.F.; VAZ, M.R.C.; FURLONG, E.B.; BAISCH, A.L.M. Antinociceptive effects of the aquec extract of *Brugmansia suaveolens* F mice. **Biological Research for Nursing.**, v. 8, p. 234-239, 2007.

PASSOS, G.F.; FERNANES, 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 verbenacea*. **Journal of Ethnopharmacology.**, p. 1-11, 2006.

PERNOW, B. Substance P. **Pharmacology Review.**, v. 35, p. 85-141, 1983.

PETRENKO, A.B.; YAMAKURA, T.; BADA, H. SCHIMOJI, K. The role of N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptors in pain: A review. **Anesthesia and Analgesia.** v. 97, p. 1108-1116, 2003.

RIEDL, K. M.; HAGERMAN, A. E.; JONES, G. A.; SOVIK, K. N.; RICHARD, N. T.; RIECHEL, T. L.; HARTZFELD, P. W. Tannins as biological antioxidants. **Third Tannin Conference.**, p. 169-170, 1998.

QUINTÃO, N.L.M.; MEDEIROS, R.; SANTOS, A.R.S.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B.. Effects of diacerhein on mechanical allodynia in inflammatory and neuropathic models of nociception in mice. **Anesthesia and Analgesia.**, v. 101, p. 1763-1769, 2005.

QUINTÃO, N.L.; ROCHA, A.C.; FERNANDES, E.S.; CAMPOS, M.M.; CALIXTO, J.B. Relevance of tumour nervous factor-alpha for the inflammatory and nociceptive responses evoked by carrageenan in the mouse paw. **British Journal of Pharmacology.**, v. 148, p. 688-695, 2006.

RIBEIRO e cols. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology.**, v387, p. 111-118, 2000.

RIEWALD, M.; RUF, W. Science review: role of coagulation protease cascades in sepsis. **Critical Care.**, v. 7, p. 123-129, 2003.

RANG H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia.** 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 703, 2000.

REGOLI, D.; BARABÉ, J. - Pharmacology of bradykinin and related kinins. **Pharmacology Review.**, v. 32, p. 01-46, 1980.

ROCHA E SILVA, M.; BERALDO, W.T.; ROSENFELD, G. Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. **American Journal of Physiology.**, v. 156, p. 261-273, 1949.

ROSEN, C.L.; ADLER, J.N.; RABBAN, J.T. Early predictors of myoglobinuria and acute renal failure following electrical injury. **Journal of Emergency Medicini.**, v. 17, p. 783-789, 1999.

ROSEN, S.D. Cell surface lectins in the immune system. **Seminars in Immunology.**, v. 5, p. 237-247, 1993.

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

SALEH, T.S.F.; CALIXTO, J.B.; MEDEIROS, Y.S. Pro-inflammatory effects induced by bradikinin in a murine model of pleurisy. **European Journal of Pharmacology.**, v. 331, p. 43-52, 1997.

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

SATAKE, H.; KAWADA, T. Overview of the primary structure, tissue distribution, and functions of tachykinins and their receptors. **Current Drug Targets.**, v. 7, p. 963- 974, 2006.

SAWYNOK. L. Gabaergic mechanisms in antinociception. **Program of Neuropsychopharmacology and Biology Psychiatry.**, v. 8, p. 581 – 586, 2003.

SCHMID-SCHÖNBEIN, G.W. Analysis of Inflammation. **Annual Review of Biomedical Engineering.**, v. 8, p. 93-151, 2006.

SHERWOOD, E.R.; TOLIVER_KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology.**, v. 18, p. 385-405, 2004.

SILVA, N. C. B.; ESQUIBEL, M. A.; ALVES, I. M.; VELOZO, E. S.; ALMEIDA, Z.; SANTOS, J. E. S.; CAMPOS-BUZZI, F.; MEIRA, A. V.; CECHINEL-FILHO, V. Efeito antinociceptivo de *Abarema cochliacarpus* (B.A. Gomes) Barneby & J.W.Grimes (Mimosaceae). **Revista Brasileira Farmacognosia.**,v. 19, 2009.

SILVA, M. G.; OLIVEIRA, F. S.; DINIZ, M. F. F. M. TAKEMURA.; O. S. Atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Conocliniopsis prasiifolia* R.M. King & H. Robinson na resposta celular de neutrófilos. **Revista brasileira farmacognosia.**, v. 18, 2008.

SIMÕES, C. e cols., **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Editora UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 5ª ed, 2004.

SOUZA, P.J.C. e cols., Estudo preliminar da atividade antiinflamatória de *Briophillum calycinum* Salisb. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 15, p. 60-64, 2005.

SPLETTSTOESSER, W.D.; SCHUFF-WERNER, P. Oxidative stress in phagocytethe enemy within. **Microscopy Research and Technique.**, v. 57, p. 441-445, 2002

STAIN, C.; SCHÄFER, M.; MACHELSKA, H.. Attacking pain at its source: new prespectives on opioids. **Nature Medicine.**, v. 9, p. 1003-1008, 2003.

SZALLASI, A.; BLUMBERG, P.M. Vanilloide (capsaicin) receptors and mechanism. **Pharmacology review.**, v. 51, p.159-211, 1999.

TANIKAWA, N.; OHMIYA, Y.; OHKUBO, H.; HASHIMOTO, K.; KANGAWA, K.; KOJIMA, M.; ITO, S.; WATANABE, K. Identification and characterization of a novel type of membrane-associated prostaglandin E synthase. **Biochemical and Biophysical Research Communications** , v 291, p 884-889, 2002.

TIEMANN, U.; TOMEK, W.; SCHNEIDER, F.; WOLLENHAUPT, K.; KANITZ, W.; BECKER, F.; POHLAND, R.; ALM, H. Platelet-activating factor (PAF)-like activity, localization of PAF receptor (PAF-R) and PAF-acetylhydrolase (PAF-AH) activity in bovine endometrium at different stages of the estrous cycle and early pregnancy. **Prostaglandins & other Lipid Mediators.**, v. 65, p. 125-141, 2001.

VALE, F. M. DOR. Novos aspectos fisiopatológicos e conseqüentes estratégias farmacológicas. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa.**, v. 5, p. 291-304, 2007.

VALLANCE, P.; CHAN, N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. **Heart (British Cardiac Society).**, v. 85, p. 342-350, 2001.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **Scandinavian Journal of Rheumatology.**, v. 44, p. 9-21, 1996.

VANEGAS H.; SCHAIBLE, H. G. Prostaglandins and cyclooxygenases in the spinal cord. **Program and Neurobiology.**, v. 64, p. 327-363, 2004.

VANOLLI e cols., Isolamento e quantificação de escopoletina a partir das folhas de *Litchi chinensis*. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L.; VOELKER, F.A. In: OTTERNESS, I.G.; BLIVEN, M.L. Laboratory Models for testing nonsteroidal anti-inflammatory drugs. 3 ed. Groton: Department of Immunology and Infectious Disease, Central Research Division, Pfizer Inc. **Federation Proceeding.**, v 35, p 2447, 1976, 1985.

WANG, X.; YUAN, S.; WANG, J.; LIN, P.; LIU, G.; LU, Y.; ZHANG, J.; WANG, W.; WEI, Y. Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. **Toxicology Applied of Pharmacology.**, v. 215(2), p. 168-78, 2006.

WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. Princípios gerais no tratamento da inflamação. In: FUCHS, F.D.; WANNAMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. Farmacologia clínica. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap22, p294-295, 2004.

WHITTLE, B.A. Reale of Kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. **International Journal of Neuropharmacology.**, v. 20, p. 54-60, 1964.

WINTER CA, RISLEY EA, NUSS GW. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Sociedade Experimental Biologia Médica.**, v. 111, p. 544-547, 1962.

WOLFE, G. I.; TRIVEDI, J. R. Painful peripheral neuropathy and its nonsurgical treatment. Department of Neurology, University of Texas Southwestern Medical Center. In: **Muscle Nerve.**, v. 30, p. 3-19, 2004

YANG, Bao.; WANG, Jinshui.; ZHAO, Mouming.; LIU, Yang.; WANG, Wei.; JIANG, Yueming. Corrigendum to "Identification of polysaccharides from pericarp tissues of *Litchi chinenses* Soon fruit in relation to their antioxidant activities" **Carbohydrate Research.**, v. 341, p. 634, 2006.

YEDGAR, S.; LICHTENBERG, D.; SCHNITZER, E. Inhibition of phospholipase a2 as a therapeutic target. **Biochimica et Biophysica.**, p. 182-187, 2000.

YUNES, R. A. ; CALIXTO, J. B. **Plantas Mediciniais**: sob a ótica da Química Medicinal Moderna. Chapecó: Agosto, 2001.

ZHAO, Mouming.; YANG, Bao.; WANG, Jinshui.; LIU, Yang.; WANG, Wei.; JIANG, Yueming. Identification of polysaccharides from pericarp tissues of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit in relation to their antioxidant activities. **Carbohydrate Research.**, v. 341, p. 634-638, 2006.

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

ZHOU, S.; BONASERA, L.; CARLTON, S.M.; Peripheral administration of NMDA, AMPA or KA results in pain behaviour in rats, **Neuroreport.**, v.7, p. 895-900, 1996.

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](#)