

GILMARA DE NAZARETH TAVARES BASTOS

***EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DE PHYSALIS  
ANGULATA (CAMAPÚ) EM RATOS: INIBIÇÃO DA PGE<sub>2</sub> E ÓXIDO NÍTRICO.***

BELÉM  
2004

GILMARA DE NAZARETH TAVARES BASTOS

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

***EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DE PHYSALIS  
ANGULATA (CAMAPU) EM RATOS: INIBIÇÃO DA PGE<sub>2</sub> E ÓXIDO NÍTRICO.***

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do grau de mestre em Neurociências.

**Orientador:** Prof. Dr. José Luiz Martins do Nascimento.

BELÉM  
2004

“O fragmento que vemos do mundo é apenas um pálido reflexo de uma outra realidade, de formas perfeitas, que existe num outro plano: o mundo das idéias”.

Platão

## AGRADECIMENTOS

- Ao Professor **Dr. José Luiz Martins do Nascimento**, pela oportunidade e incentivo nas etapas de minha carreira científica.
- À Professora **Dra. Vânia Moraes Ferreira**, pelo aprendizado na minha carreira docente e oportunidade na minha carreira científica.
- À Professora **Ana Júlia Aquino** pela confiança e por ter acreditado no meu potencial científico.
- Aos amigos do LNMC que estiveram comigo nos momentos mais difíceis, assim como nos momentos mais felizes, em que aqui estive.
- Ao professor Dr. Domingos Picanço-Diniz pela contribuição metodológica.
- A todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

- Aos meus pais **Sandra e Barata Bastos** pelo incentivo, confiança e resignação.
- Ao meu amor **Chubert Sena**, pela dedicação, carinho, companheirismo e incentivo científico.
- Aos meus amigos, **João Paulo Coimbra, Anderson Clayton Andrade, Carlomagno Bahia**, pela amizade, dedicação e pelos momentos de descontração.

## **SUMÁRIO**

## **1. INTRODUÇÃO**

1

### **1.1 AS PLANTAS MEDICINAIS**

1

### **1.2 *Physalis angulata* : DESCRIÇÃO E USOS NA MEDICINA POPULAR**

3

### **1.3 A INFLAMAÇÃO: UM PROCESSO DE REPARO**

6

#### **1.3.1 Características do Processo inflamatório**

8

#### **1.3.2 Tipos de Resposta Imune**

9

#### **1.3.3 Formação de Eicosanoides**

11

### **1.4 CARRAGENINA: UM AGENTE FLOGÍSTICO**

16

### **1.5 MEDIADORES BIOQUÍMICOS**

17

#### **1.5.1 Adenosina deaminase, um mediador enzimático**

18

#### **1.5.2 Óxido nítrico (NO), um mediador vasoativo**

19

#### **1.5.3 Prostaglandinas (PGEs): Eicosanóides de funções variadas**

24

## 1.6 DROGAS USADAS NA SUPRESSÃO DE REAÇÕES INFLAMATÓRIAS

25

### 1.6.1. Drogas antiinflamatórias não esteroidais (DAINEs)

26

## 1.7. NOCICEPÇÃO: UM MECANISMO DE PROTEÇÃO

28

### 1.7.1 Nociceptores são ativados por estímulos mecânicos, químicos e térmicos

30

### 1.7.2 Dor aguda e Dor Crônica

31

### 1.7.3 Mecanismos Periféricos da dor

34

#### 1.7.4 Mecanismo Central da dor

34

#### 1.7.5 Modelos experimentais de dor

39

#### 1.7.5.1 PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR ÁCIDO ACÉTICO

40

#### 1.7.5.2 PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR FORMALINA

40

#### 1.7.5.3 PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR ESTÍMULO TERMICO

41



## **2. OBJETIVOS**

44

### 2.1 OBJETIVO GERAL

44

### 2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

44

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

45

### 3.1 MATERIAL BOTÂNICO

45

### 3.2 EXTRAÇÃO DO MATERIAL DE ESTUDO

45

### 3.3 ANIMAIS

46

### 3.4 MODELOS PARA A VERIFICAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO

46

#### 3.4.1 **Modelo de inflamação de bolsa de ar**

46

#### 3.4.2 **Cultura de Exsudato**

48

### 3.5. MODELOS PARA INDUÇÃO DE DOR

49

#### 3.5.1 **Ácido acético induzindo contorções abdominais**

49

**3.5.2 Indução de Dor pela metodologia de Placa Quente**

49

**3.5.3 Indução de dor pela metodologia de formalina**

50

**3.6. ANÁLISES BIOQUÍMICAS**

51

**3.6.1. Medida da atividade de Adenosina Deaminase**

51

**3.6.2 Ensaio de Nitrito**

52

**3.6.3 Ensaio de medida dos níveis de Prostaglandina E 2**

52

**3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

53

**4. RESULTADOS**

54

**4.1. PROLIFERAÇÃO CELULAR E VOLUME DE EXUDATE NOS GRUPOS TRATADOS COM EAPA**

54

**4.2. EFEITO DE EAPA NA PRODUÇÃO DE NO INDUZIDO POR CARRAGENINA**

59

4.3. EM INIBIÇÃO IN VIVO DA ATIVIDADE DA ADA POR EAPA	
61	
4.4. INIBIÇÃO IN VIVO DOS NÍVEIS DE PGE <sub>2</sub> POR EAPA	63
4.5. ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EAPA	
65	
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>70</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b>	
79	
<b>7. BIBLIOGRAFIA</b>	
80	

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Página

<b>Figura 1</b> - Características anatômicas do caule, flores, folhas e frutos da espécie <i>Physalis angulata</i>	
07	
<b>Figura. 2</b> - Esquema resumido da síntese de prostaglandinas.	14
<b>Figura 3</b> - Relações entre as vias que conduzem à geração de eicosanoides pela COX1 e COX2.	15
<b>Figura 4</b> - Reação de desaminação de Adenosina formando Inosina, catalisada pela enzima Adenosina Deaminase.	18
<b>Figura 5</b> - Desenho esquemático das duas isoformas de NOS.	22
<b>Figura 6</b> - Reações de Formação de Nitrito e Nitrato	22
<b>Figura 7</b> – Formação e funções do NO	23
<b>Tabela 1</b> - Características gerais e classificação dos três tipos de dor: Aguda, subcrônica e crônica.	33
<b>Figura 8</b> - Localização e projeções neuronais das fibras aferentes no corno dorsal do cordão espinhal.	35
<b>Figura 9</b> – Via espinotalâmica	38
<b>Figura 10</b> - Esquema simplificado do mecanismo da dor.	43

- Figura 11** - Esquema da metodologia de bolsa de ar. 48
- Figura 12** - Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre o volume de exsudato induzido por carragenina. 55
- Figura 13** - Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre o número total de células do exsudato inflamatório induzido por carragenina. 56
- Figura 14** - Efeito do extrato de *Physalis angulata* na migração celular 58
- Figura 15** - Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre a concentração de nitrito em exsudato inflamatório induzido por carragenina. 60
- Figura 16** - Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre a atividade da enzima ADA em exsudato inflamatório induzido por carragenina. 62
- Figura 17** - Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre os níveis de PGE<sub>2</sub> em exsudato inflamatório induzido por carragenina. 64
- Figure 18** - Efeito de extrato aquoso de *Physalis angulata* contra dor visceral induzida por ácido acética. 67
- Figure 19** - Efeito de extrato aquoso de *Physalis angulata* contra a primeira fase (0 a 5 min) ou segunda fase (15 a 30 min) de nocicepção induzida por formalina. 68
- Figure 20** - Efeito de extrato aquoso *Physalis angulata* no teste de placa-quente em ratos. 69

### **LISTA DE ABREVIATURAS**

PMNs - Leucócitos polimorfonucleares

MN - Leucócitos mononucleares

BCGF- Fator de crescimento de células B

BCDF - Fator de diferenciação de células B

LT<sub>H</sub> - Células T auxiliares

CAA - Células apresentadoras de antígenos

CPH - Complexo de histocompatibilidade

LT<sub>C</sub> - Células T citotóxicas

IL2 - Interleucina 2

PGs- Prostaglandinas

PGE<sub>2</sub> - Prostaglandina E<sub>2</sub>

COX 1 - Ciclooxigenase 1

COX 2 - Ciclooxigenase 2

PGG - Prostaglandina G

PGH - Prostaglandina H

PGF - Prostaglandina F

PGD - Prostaglandina D

PGI - Prostaglandina I

PGD<sub>2</sub> - Prostaglandina D<sub>2</sub>

PGI<sub>2</sub> - Prostaglandina I<sub>2</sub>

TXA - Tromboxano

TXA<sub>2</sub> - Tromboxano<sub>2</sub>

NO - Óxido nítrico

ADA - Adenosina deaminase

EDRF- Fator de relaxamento derivado de endotélio

NOS - Óxido nítrico sintase

eNOS - Óxido nítrico sintase endotelial

iNOS - Óxido nítrico sintase induzida

nNOS - Óxido nítrico sintase neuronal

TNF $\alpha$  - Fator de necrose tumoral  $\alpha$

$\text{NO}_2^-$  - Nitrito

$\text{NO}_3^-$  - Nitrato

$\text{NO}_2$  - Dióxido de nitrogênio

$\text{N}_2\text{O}_3$  - Trióxido de dinitrogênio

$\text{H}_2\text{O}$  - Água

$\text{O}_2$  - Oxigênio

$\text{ONOO}^-$  - Peroxinitrito

$\text{OH}^-$  - Íon hidroxila

$\text{Ca}^{++}$  - Cálcio

AIDS - Síndrome da imunodeficiência adquirida

EP1 - Receptor de prostaglandina do tipo 1

EP2 - Receptor de prostaglandina do tipo 2

EP3 - Receptor de prostaglandina do tipo 3

EP4 - Receptor de prostaglandina do tipo 4

DAINE- Droga antiinflamatória não esteroideal

$\text{A}\delta$  - Fibras A delta

$\text{A}\alpha$  - Fibras A alfa

$\text{A}\beta$  - Fibras A beta

C - Fibras C

5-HT- 5-Hidroxitriptamina



K<sup>+</sup> - Potássio

i.p.- Intraperitoneal

EAPa- Extrato aquoso de *Physalis angulata*

ELISA - Ensaio imunoenzimático

ID50 - Dose inibitória de 50%

ANOVA- Análise de variância

DMEN - Dubelco Modified Eagle Medium

o.p. - Via oral

LPS - Lipopolissacarídeo

[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> - Concentração interna de cálcio

NMDA - N-metil-d-aspartato

A1 - Receptor de adenosina do tipo 1

A2 - Receptor de adenosina do tipo 2

NF-kB- Fator nuclear kappa B

IRF-1 - Fator regulador de interferon 1

GAS - Sequência ativadora de interferon gama

PBS - Tampão fosfato com salina

SBF - Soro Bovino Fetal

## RESUMO

Neste estudo, nós identificamos os possíveis ações antinociceptiva e antiinflamatória do extrato aquoso de raízes de *Physalis angulata* (EAPa), conhecido no Brasil como "Camapu". O EAPa administrado por i.p. ou p.o., 0,5 e 1 hora antes do agente álgico na dose de (10-30 mg/kg) promoveu uma inibição significativa nas contrações abdominais causada por ácido acético, com valores de ID50 de 18.5 (17.4-19.8) e 21.5 (18.9-24.4) mg/kg e inibições de 83±8 e 66±5%, respectivamente. O EAPa (10-60 mg/kg, i.p.) também causou uma inibição da segunda fase de dor induzida por formalina, com um valor de ID50 de 20.8 (18.4-23.4) mg/kg e inibição de 100%. O tratamento de ratos com EAPa (60 mg/kg, i.p.) ou com morfina (10 mg/kg, i.p.) produziu um aumento do tempo de reação no teste de placa-quente. Estes resultados demonstram que EAPa promoveu antinocicepção contra a dor visceral induzida por ácido acético e inibição da dor inflamatória induzida por formalina em ratos. Para estudar o efeito deste extrato no processo flogístico, a bolsa de ar foi induzida subcutaneamente no dorso de ratos dos animais e um processo inflamatório foi produzido injetando-se 1% de carragenina no nono dia depois da preparação de bolsa de Ar. Os ratos foram tratados intraperitonealmente com veículo (salina); Indometacina; ou EAPa (0.5mg; 1 mg e 5mg/kg), uma hora antes da administração de carragenina. Dezesesseis horas depois da aplicação do agente de flogístico, os animais foram sacrificados por excesso de éter e os exsudatos libertados naquela área foram retirados e analisados. A atividade da ADA, os metabólitos do óxido de nítrico e os níveis de PGE<sub>2</sub> foram usados como mediadores inflamatórios. A indometacina e EAPa promoveram uma inibição significativa do processo inflamatório induzido por carragenina quando comparados com o grupo controle. O EAPa (0.5mg/kg) teve pouco efeito nos parâmetros analisados. Em contraste, 1mg/kg de EAPa apresentou efeito antiinflamatório significativo. O volume de exsudato, o número total de células, os metabólitos de óxido de nítrico, a atividade da ADA e os níveis de PGE<sub>2</sub> diminuíram em 50%, 41%, 60%, 20% e 41% respectivamente, enquanto no grupo tratado com 5mg/Kg, a inibição foi maior (84%, 80%, 70%, 43%, 75% respectivamente) para os mesmos parâmetros analisados. Os valores foram representados por média ± SEM, e estatisticamente analisados usando-se a ANOVA, seguida do *post hoc* Newman-Keuls. Diferenças foram consideradas significantes quando \*p <0.05 e \*\*p <0.01. Os resultados indicam que EAPa mostra uma poderosa atividade antiinflamatória e antinociceptiva interferindo com as vias da ciclooxigenase e produção de NO, indicando um possível mecanismo de ação.

## SUMMARY

In this study, we identified the possible antinociceptive and anti-inflammatory action of aqueous extract from roots of *Physalis angulata* (AEPa), known in Brazil as “Camapu”. The AEPa of *P. angulata* (10-30 mg/kg) given by i.p. or p.o. route, 0.5 or 1 h prior, produced significant inhibition of abdominal constrictions caused by acetic acid, with ID<sub>50</sub> values of 18.5 (17.4-19.8) and 21.5 (18.9-24.4) mg/kg and inhibitions of 83±8 and 66±5%, respectively. The AEPa (10-60 mg/kg, i.p.) also caused an inhibition of the late phase of formalin-induced pain, with an ID<sub>50</sub> value of 20.8 (18.4-23.4) mg/kg and inhibition of 100%. Treatment of mice with AE (60 mg/kg, i.p.) or with morphine (10 mg/kg, i.p.) produced an increase of the reaction time in the hot-plate test. These results demonstrate, for the first time, that the AEPa produce marked antinociception against the acetic acid-induced visceral pain and inflammatory pain responses induced by formalin in mice. While, for the phlogistic process, air pouch was induced subcutaneously on the backs of rats and an inflammatory process was produced by injecting 1% of carrageenan on the ninth day after the preparation of air pouch. The rats were treated intraperitoneally with vehicle (saline); Indomethacin; or aqueous lyophilized extract of the *Physalis angulata* (0.5mg; 1mg and 5mg/kg), one hour before the administration of carrageenan. Sixteen hours after phlogistic agent application, animals were sacrificed by excess of ether and the exudates released in the pouch were removed and analyzed. Adenosine Deaminase activity (ADA), metabolites of the nitric oxide (NO<sub>3</sub>) and Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) were used as inflammatory mediators. Indomethacin and AEPa groups significantly inhibited inflammatory process induced by carrageenan when compared with vehicle group. AEPa (0.5mg/kg) had little effect in the analyzed parameters. In contrast, 1mg/kg of AEPa showed significantly anti-inflammatory effect. The volume of exudates, total number cells, nitric oxide metabolites, Adenosine deaminase activity and PGE<sub>2</sub> levels decreased in 50%, 41%, 60%, 20% and 41% respectively, while AEPa – treated animals with 5mg/Kg, the inhibition was bigger (84%, 80%, 70%, 43%, 75% respectively) to the same analyzed parameters. The suppression of PGE<sub>2</sub> was greater than nitrite levels in the AEPa-treated animals when compared with indomethacin group. Values were expressed as means ± SEM, analyzed using, one-way analysis of variance (ANOVA) and *post hoc* Newman – Keuls test. Significant differences were considered when \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$ . The results indicate that AEPa exerts a powerful anti-inflammatory and antinociception activities. AEPa acts by interfering with the cyclooxygenase pathway and NO production, indicating a possible mechanism of action.

## 2 INTRODUÇÃO

### 2.1 AS PLANTAS MEDICINAIS

Há milhares de anos, a medicina popular já especulava as propriedades milagrosas de certas plantas, para a cura de numerosos males da espécie humana, constituindo os respectivos conhecimentos terapêuticos, segredos sigilosamente guardados, de geração a geração e, ainda hoje, jamais revelados aos homens civilizados. Mas, a curiosidade humana, estimulada pela pesquisa científica, vem conseguindo, com cautela e real interesse, desvendar muitos segredos referentes ao emprego de plantas.

Em muitas civilizações antigas a origem das plantas medicinais estava relacionada ao poder divino. Um mito grego conta que Apolo, compadecido do sofrimento que as doenças traziam aos homens, dotou as ervas de poderes curativos e transmitiu esse conhecimento a seu filho Asclépio, deus da medicina, chamado Esculápio pelos romanos (Teofratus, **apud** Bontempo, 1994, pp.53). Segundo a mitologia hindu, quando o homem surgiu na Terra, o deus Indra previu que os atos humanos desarmônicos podiam gerar males físicos e doenças. Pediu então a Brahma, o Senhor Absoluto, que insuflasse nas plantas o poder da cura. O poder de Indra se realizou, e foi assim que as ervas, até então todas semelhantes entre si, ganharam uma enorme diversidade de formas, aromas e virtudes terapêuticas (Balbach, 1972).

Durante o Império Romano e na Idade Média, a mortal “Dama da Noite” era com freqüência usada para produzir um envenenamento obscuro. Isto inspirou Linné a denominar o arbusto de *Atropa belladonna*, em homenagem a Átropos, a mais velha das três deusas do Destino que cortavam os fios da vida. O nome *belladonna* deriva do

suposto uso do sumo desta planta por mulheres italianas para dilatação pupilar (Goodman & Gilman, 1990).

No antigo Egito, os papiros de Ebers, já descreviam a aplicação de uma decocção das folhas secas de murta no abdômen para dores no útero e para dores reumáticas. Mil anos depois, Hipócrates recomendou os sucos do salgueiro para aliviar a dor de parto e reduzir febre. Sendo que posteriormente, foi descrita a presença de salicilatos nestes remédios (Vane *et al.*, 1998).

Com as grandes navegações, a conquista de novas terras e a observação de culturas populares, a exuberante flora medicinal das terras descoberta foi sendo explorada e descrita, de acordo com padrões estabelecidos por comerciantes, médicos, aventureiros e outros que se lançavam à aventura marítima (Galvão, 1966). As plantas medicinais importadas tiveram imensa aceitação na farmacologia européia, o que estimulou o envio de médicos e naturalistas para estudá-las em profundidade (Gordinho, 1999).

O Brasil, devido a sua cultura exorbitante e a sua mistura de raças, guarda na memória do seu povo conhecimentos importantíssimos para a ciência da farmacologia. A grandiosidade do nosso país guarda na terra milhares de espécies de plantas, e nelas inúmeras substâncias que são utilizadas pela população para curar doenças. Um bom exemplo é o uso das folhas de pata-de-vaca e pedra-ume-caá, para diminuir os níveis de glicose no sangue e o chá das folhas de embaúba, utilizado como antihipertensivo são remédios populares advindos da cultura indígena (Corrêa, 1909; Balbach, 1972).

Neste trabalho daremos ênfase à espécie *Physalis angulata* com o intuito de realizar análises farmacológicas para verificar suas possíveis atividades medicamentosas relatadas pela população ribeirinha e pela literatura descrita a seguir.

## 2.7 *Physalis angulata* : DESCRIÇÃO E USOS NA MEDICINA POPULAR

*P.angulata* é uma planta pertencente à família **Solanaceae**, que compreende aproximadamente 120 espécies com características herbárias e hábitos perenes (Corrêa, 1962; Kissmann & Groth, 1995) que se distribuem ao longo de regiões tropicais e subtropicais do mundo (Kissmann & Groth, 1995, Santos *et al.*, 2003); do **gênero** *Physalis*, **espécie** *angulata*, vulgarmente conhecida como Camapú. Na literatura, esta mesma espécie apresenta como sinonímia, que dependerá do local de coleta e da cultura popular regional, os seguintes nomes: Canapu, Bicho-de-rã, Mata-Fome, Juá-de-capote, Camambu, Camaru. Como sinonímia científica, esta planta pode ser identificada como *Physalis dubia* Link.; *Physalis linkiana* Nees; *Physalis ciliata* Sieb et Zucc, com descrições botânicas análogas (Rodrigues, 1989; Lorenzi, 1982; Martins, 1989)

Segundo Corrêa (1909), esta é uma erva anual de até 1 m de altura, muito ramosa e glabra, de caule ereto e formato triangular na base e quadrangular tanto na parte superior quanto nos ramos, apresentando coloração verde clara. Suas folhas são alternas ou geminadas, dotadas de pecíolo longo, cerrada-dentada. Possui flores pequenas de cor amarelada e frutos comestíveis, apresentando-se como bagas de 2 a 3 cm de diâmetro, amarelo-esverdeados quando maduros, cobertos totalmente pelos cálices, assemelhando-se a pequenos tomates ou JUÁ, contendo grande quantidade de

sementes (Figura 1). A planta em sua totalidade contém um glicosídeo amargo denominado fisalina (Rodrigues, 1989)

A *Physalis angulata* é uma planta de clima tropical e subtropical, de vasta localização. Na Amazônia, esta planta é encontrada em abundância em hortas, jardins e quintais ou à margem das estradas. É uma planta daninha, bastante freqüente, infestando lavouras anualmente. Suas sementes apresentam grande poder germinativo, preferencialmente em solos semi-úmidos e sombreados (Lorenzi, 1982). O seu uso é largamente difundido na medicina popular, cujo suco é empregado nas dores de ouvido, fazendo-as cessar prontamente, razão pela qual acreditam ser narcótico. O infuso ou o decocto das raízes é empregado contra problemas hepáticos e reumáticos (Corrêa, 1909).

Na Guatemala e na América Caribenha, o uso de plantas medicinais é bem difundido na cultura popular, sendo por exemplo, utilizada para o tratamento de gonorréia. Cáceres *et al.* (1995), utilizaram extrato hidroalcoólico de folha a 50% e verificaram a atividade antigonorreica deste extrato sobre culturas de *Neisseria gonorrhoeae*. Freiburghaus *et al.* (1996), utilizaram um extrato diclorometânico de caule de *Physalis angulata* em cultura de *Trypanosoma brucei rhodesiense* isolado na Tanzânia e verificaram a atividade anti-tripanosômica deste extrato, na concentração de 0,1 µg/ml.

Elegami *et al.* (2001), verificaram a atividade bactericida de extratos de *P. angulata* extraídos com CHCl<sub>3</sub>, MeOH e H<sub>2</sub>O, em culturas de *Bacillus subtilis*,

*Staphylococcus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, com zonas de inibição<sup>1</sup> que variaram de 12-15 cm.

A análise química desta espécie é bem investigada. Foram isolados flavonóides glicosídeos, vintangulinas, fisangulinas e fisalinas (Ramachandra Row *et al.*, 1978; Ramachandra Row *et al.*, 1980; Shingu *et al.*, 1992; Ismail *et al.*, 2001). A vintagulina A, isolada em 1989, induz uma disfunção na atividade enzimática da topoisomerase II, na concentração de 20  $\mu$ M *in vitro* (Juang *et al.*; 1989).

Mas recentemente, Soares *et al.* (2003), mostraram que seco-esteróides (como as Physalinas B, F ou G mas não D) isoladas de *P. angulata* causavam uma redução na produção de óxido nítrico (NO) por macrófagos estimulados com lipopolisacarídeo bacteriano (LPS) e interferon- $\gamma$ . Em seguida, Choi e Hwang (2003) demonstraram que o extrato metanólico das flores de *P. angulata* exibiam uma ação antiinflamatória em edema de pata induzido por carragenina.

### 1.3 A INFLAMAÇÃO: UM PROCESSO DE REPARO.

Durante o processo de evolução, no qual apenas os mais adaptados conseguem sobreviver, os seres humanos adquiriram um sistema de defesa, que é desencadeado por uma resposta imune contra os agentes agressores. Durante a agressão, células especializadas são recrutadas, através de mediadores que provocam uma resposta inflamatória, que podem ser, muitas das vezes, lesivas não somente ao agente invasor, mas também ao próprio organismo invadido (Collin *et al.*, 2000). Em vista

---

<sup>1</sup> Nos antibiogramas, a zona de inibição é referente à área de ação do disco da droga em uso, onde as bactérias semeadas em placa de Petri não crescem, devido à atividade do medicamento.



disso, um grande número de trabalhos sobre antiinflamatórios vem sendo pesquisado, com intuito dessas drogas serem utilizados como fármacos para a medicina.

A inflamação é uma reação complexa no tecido conjuntivo vascularizado em decorrência de modificações provocadas por estímulos exógenos ou endógenos (Stites & Terr, 1992), correspondendo a uma resposta protetora, cujo objetivo final é livrar o organismo da causa inicial da lesão celular e suas conseqüências (Collin *et al.*, 2000). Ela serve para destruir, diluir ou encerrar o agente lesivo, mas por sua vez põe em movimento uma série de eventos que, tanto quanto possível cicatrizam e reconstituem o tecido lesado (Male, 1999). Às vezes, o processo inflamatório pode provocar transtornos para o organismo, como a indução de edema de glote devido a doenças alérgicas.



### **1.3.1 Características do Processo inflamatório.**

No momento em que ocorre um estímulo danoso ao organismo, este se modifica fisiologicamente, caracterizando uma cascata inflamatória que, em resumo, provoca dor, calor, rubor e edema. O início destes quatro sintomas é provocado pela (a) vasodilatação dos vasos sanguíneos com conseqüente aumento do fluxo local; (b) aumento da permeabilidade dos capilares com extravasamento de líquido para os espaços intersticiais; (c) migração de numerosos granulócitos e monócitos para o tecido lesado por quimiotaxia; e conseqüentemente (d) a transudação ou exudação do plasma

formando um edema local (Williams, & Peck, 1977; Goodman & Gilman, 1990; Collins, 2000).

Devido a estas mudanças acima citadas, a resposta inflamatória é caracterizada pela formação de edema (Winter, 1962) e o acúmulo de leucócitos polimorfonucleares (PMNs). Sendo que, os PMNs são posteriormente substituídos por leucócitos mononucleares (MN) e essa mudança depende do tipo de lesão inflamatória, estímulo, local de ação (Hambleton & Miller, 1989). Desse modo, as células mais comuns neste processo são mastócitos, monócitos/macrófagos e neutrófilos PMNs (Hambleton & Miller, 1989; Willoughby *et al*, 2000).

O edema local formado é a resultante de excesso de líquido no interstício produzido pela ação de mediadores vasoativos. Pode corresponder a um exsudato, líquido extravascular inflamatório com elevada concentração de proteínas (Colville-Nash & Gilroy, 2000), células do processo inflamatório e seus fragmentos que resulta numa densidade acima de 1,020 ou a um transudato, com baixo teor protéico e densidade inferior a 1,012 (Robbins, 2000). Todas essas características viabilizam o desenrolar do processo inflamatório que culmina com a eliminação do agente lesivo.

### **1.3.2 Tipos de Resposta Imune**

A resposta imune consiste de duas vias básicas: Uma resposta imune mediada por anticorpos e a outra mediada por células. Enquanto, a resposta imune humoral é capaz de reconhecer e amplificar a resposta secundária, a imunidade celular tem o papel de proteção e fagocitose. O processo inflamatório faz parte desta resposta celular (Ninnemann, 1988).

A resposta imune mediada por anticorpos, caracterizada pela ativação de linfócitos B, envolve a produção de anticorpos, que são proteínas específicas denominadas de imunoglobulinas. A ligação do anticorpo com a substância exógena (antígeno) promove bloqueio e seleção de tal antígeno facilitando assim, sua fagocitose e/ou a ativação de um sistema de proteínas do sangue denominada complemento, com o intuito de formar um poro hidrofílico na superfície do agente invasor para promover sua destruição. A produção de anticorpos ocorre devido a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, a partir de fatores de crescimento e diferenciação de células B (BCGF e BCDF, respectivamente) secretados pelos linfócitos auxiliares ( $LT_H$ ) (Abbas *et al.*, 2003).

A resposta mediada por células, envolve a produção de células especializadas (linfócitos T) que reagem com o antígeno sobre a superfície de outras células do hospedeiro (Albert *et al.*, 1997). Quando o organismo é exposto ao antígeno, a resposta mediada por células é ativada e o agente exógeno é fagocitado por células especializadas, chamadas células apresentadoras de antígenos. Epítopos (fragmentos antigênicos) são expressos na superfície de tais células, a partir de moléculas do complexo de histocompatibilidade de classe II (CPH de classe II) e vão ser reconhecidos pelos linfócitos T auxiliares ( $LT_H$ ) que, ao serem ativados, promovem a proliferação de linfócitos T citotóxicos ( $LT_C$ ) mediante secreção de interleucina-2 (IL2). A ativação de células T e B promovem memória imunológica, para que futuramente, em um segundo ataque do mesmo antígeno, ocorra uma resposta rápida, intensa e específica (Male, 1999).

Conforme demonstrado experimentalmente na década de 50, estas duas respostas podem encontrar-se vinculadas podendo ser apenas uma eficaz, é o

que ocorre com as respostas formadas contra microorganismos intracelulares, onde estes não entram em contato com as imunoglobulinas. A ligação dos anticorpos inativa vírus, bactérias e suas toxinas (tais como toxina tetânica e botulínica), bloqueando sua capacidade de ligação aos receptores das células do hospedeiro, o que também possibilita a destruição do antígeno pelo recrutamento de neutrófilos e ativação do sistema complemento, induzindo a formação de poros em paredes bacterianas, assim como a destruição da própria célula infectada que possui em sua superfície os antígenos infecciosos (Albert, 1997).

### **1.3.3. Formação de Eicosanóides**

O ácido aracdônico, derivado do ácido linoleico da dieta e precursor da família das prostaglandinas é encontrado esterificado em fosfolipídios das membranas celulares na forma de araconato. Além disto, a síntese de eicosanóides resulta também da liberação dos estoques celulares de lipídios pelas hidrolases acíclicas (Ninnemann, 1988).

Os produtos metabólicos do ácido aracdônico apresentam infinitas funções no processo fisiológico normal. Pesquisadores como Bergström, Samuelsson e Vane ganharam o Nobel de Medicina em 1982, devido as suas contribuições para a ciência. Estes foram os pioneiros no estudo e descoberta destes ácidos graxos poliinsaturados; Bergström, verificou a síntese e purificação de prostaglandinas e *in vivo*, Samuelsson demonstrou que plaquetas produzem tromboxanos e que estes

participavam da cascata de coagulação. Vane *et al.*, demonstraram a habilidade da aspirina em inibir a produção de prostaglandinas (Ninnemann, 1988; Vane *et al.*, 1998)

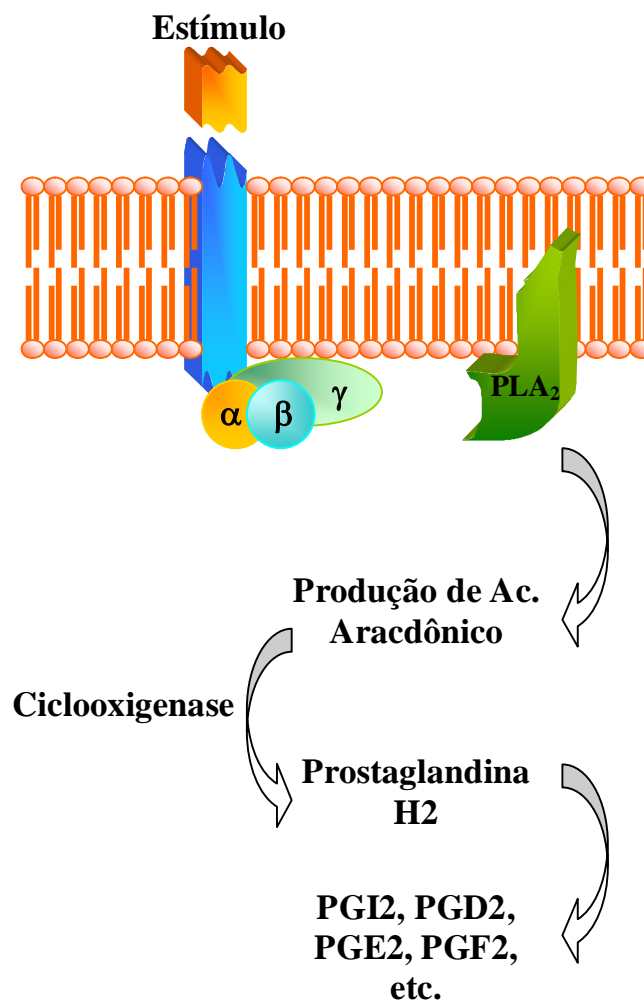
A produção de prostaglandinas é iniciada com a liberação de ácido aracdônico pela membrana fosfolipídica pela ativação de fosfolipase A<sub>2</sub> por estímulos inflamatórios através da interação com receptores ligados a uma proteína G. O ácido aracdônico é convertido a Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) pelas enzimas ciclooxigenases - COX-1 e COX-2 (Figura 2). A COX-1 é geralmente, expressa constitutivamente em muitos tecidos do organismo, cuja atividade mantém os processos homeostásicos como a secreção de suco gástrico, enquanto que, a COX-2 é uma enzima induzida que esta envolvida na regulação do processo inflamatório e também na formação de PGE<sub>2</sub> (Harris *et al.*, 2002). Esta apresenta duas atividades distintas: origina e cicla os ácidos graxos percussores da prostaglandina G (PGG) e ativa a peroxidase que converte PGG em prostaglandina H (PGH). Posteriormente, a PGG e a PGH podem ser enzimaticamente transformadas em tromboxano (TXA), prostaglandina E (PGE), prostaglandina F (PGF) e prostaglandina D (PGD) e seus isômeros PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub> (Figura2) (Ninnemann, 1988; Appleton, 1996).

As PGs não são armazenadas, porém são sintetizadas em resposta a diversos estímulos e penetram no espaço extracelular, atuando principalmente como hormônios locais (autacóides), cujas atividades biológicas apresentam-se usualmente restrita às células, tecidos ou estruturas nas quais são sintetizadas (Ashby, 1997).

Ocorre uma relação restrita entre a ativação da via e a formação de eicosanóides por COX1 ou COX2 (Figura 3). Em condições fisiológicas a ativação da enzima constitutiva COX1, ocorre em plaquetas, endotélio, mucosa do estômago ou rins resultando na liberação de tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e PGE<sub>2</sub>

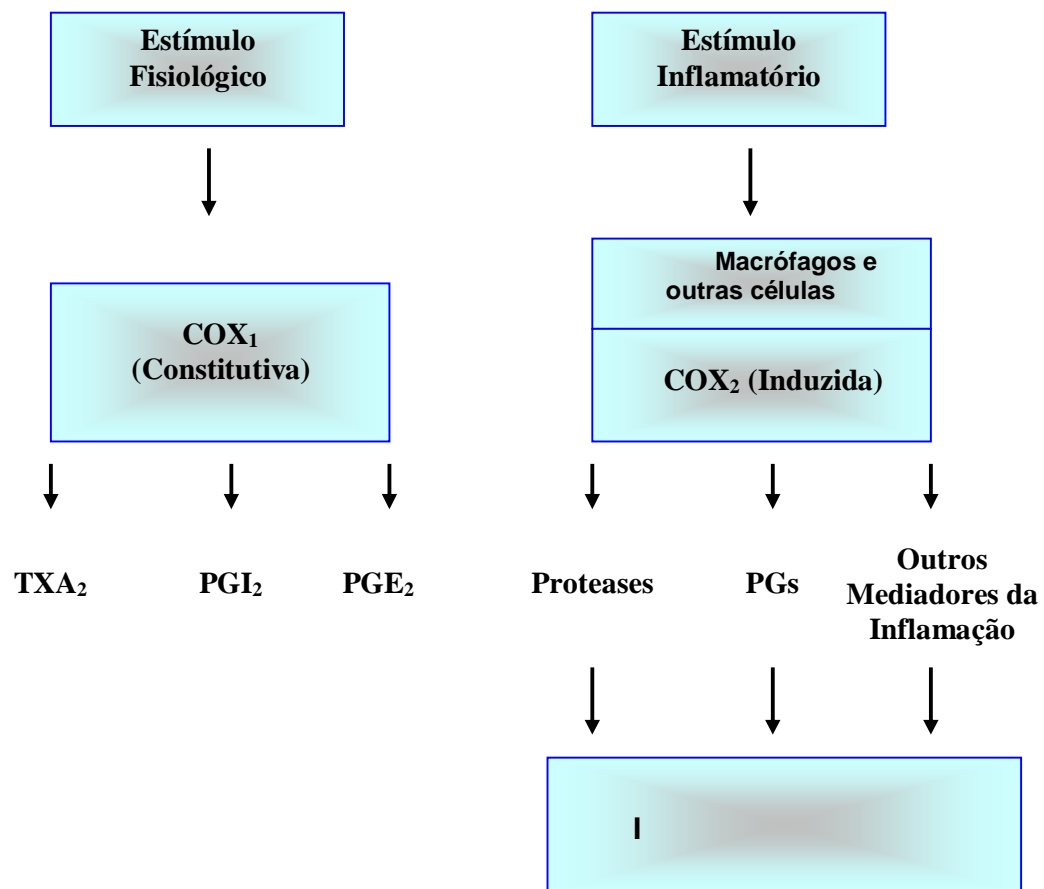
(Kenneth, 1995), cuja liberação destes eicosanóides é seletivamente inibida por drogas como a aspirina (Mitchell *et al.*, 1993). A síntese de COX2 é induzida por citocinas liberadas por estímulos inflamatórios, esta isoforma vai promover a liberação de PGs, proteases e outros mediadores inflamatórios por células como macrófagos e fibroblastos (Smith *et al.*, 1996). Esta isoforma pode ser inibida por glicocorticóides, antagonistas de citocinas ou inibidores seletivos para COX2 (Mitchell *et al.*, 1993).

O conhecimento da produção de eicosanóides pelas enzimas ciclooxigenases, são de extrema importância para o avanço na terapia do processo inflamatório. Como por exemplo, o estudo de drogas que inibem a COX2, como a aspirina que diminui a inflamação, mas se expandem como um inibidor de COX1 em plaquetas para a prevenção de trombose (Mitchell, *et al.*, 1993).



**Figura 2:** Esquema resumido da síntese de prostaglandinas. O estímulo atua em receptores ligados a proteína G, que promove a formação de ácido aracdônico. Este, após ser convertido enzimaticamente em Prostaglandina H<sub>2</sub> pela ciclooxigenase, promove a formação de subtipos de PGs. Modificado de Harris *et al*, 2002.





**Figura 3:** Relações entre as vias que conduzem à geração de eicosanóides pela COX<sub>1</sub> e COX<sub>2</sub>. Modificado de Mitchell, 1994

#### 1.4. CARRAGENINA: UM AGENTE FLOGÍSTICO

Em 1962, Winter, *et al.*, utilizaram um mucopolissacarídeo, chamado carragenina, derivado de um musgo marinho, *Chondrus*, e concluíram que o mecanismo da produção de edema provocado por esta droga não era, provavelmente, pela liberação de histamina e serotonina uma vez que, os autores utilizaram em seus experimentos grandes doses de potentes antagonistas de serotonina e histamina, e observaram a ineficiência destes sobre a carragenina. Além disso, afirmaram que a atividade desta droga, é anulada pela administração de aspirina e fenilbutazona.

Em 1969, Willis, demonstrou que a liberação de histamina, cininas e níveis altos de prostaglandinas no final do processo inflamatório são responsáveis pela mediação da resposta inflamatória aguda, induzida pela carragenina em ratos (Di Rosa *et al.*, 1971). Modificações no sistema de complemento são também induzidas pela carragenina e isto pode ser explicado pela previa ativação no plasma (Serafini-Cessi & Cessi, **apud** Di Rosa *et al.*, 1971, pp.25).

O início da resposta à carragenina produzindo edema de pata ocorre 4 horas após sua aplicação na região plantar da pata do animal. O pico máximo da atividade desta resposta é visualizado com a máxima presença da vasodilatação e edema (Di Rosa *et al.*, 1971)

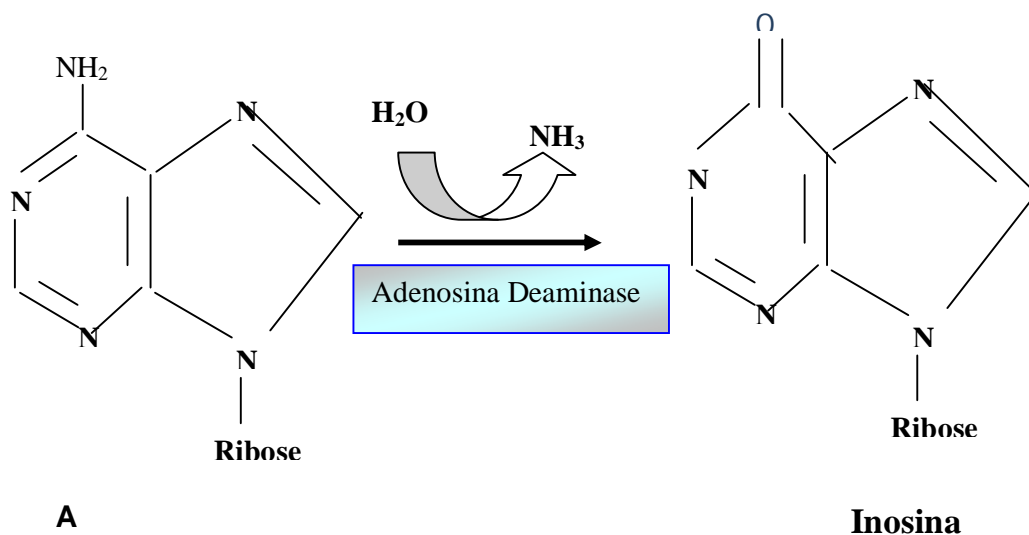
## 1.5. MEDIADORES BIOQUÍMICOS

Todas as modificações que ocorrem no organismo, por exemplo a vasodilatação dos capilares; o ataque dos macrófagos ao agente agressor; a proliferação de linfócitos e todo o mecanismo da cascata inflamatória a partir do momento em que este é lesado pelo agente agressor, são em decorrência da produção de mediadores químicos endógenos, ou seja, as células são capazes de mediar a resposta imune através da produção e liberação de compostos químicos, ou pelo recrutamento de outras células que liberam ou produzem outros mediadores adicionais.

Com isso, pode-se afirmar que os mediadores da inflamação, são substâncias químicas endógenas, oriundas da ativação de células inflamatórias, em consequência da ativação da resposta imune. Esses mediadores também são liberados ou gerados por estimulação direta das células, através de citocinas ou pela atuação de fármacos (Torres *et al.*, 2000). Dentre estes mediadores químicos estão, PGs e NO e como mediador enzimático a adenosina deaminase (ADA).

### 1.5.1 Adenosina deaminase, um mediador enzimático

A adenosina deaminase (*adenosine amino hydrolase*, EC 3.5.4.4.) (ADA) é uma enzima encontrada em muitos tecidos de mamíferos, envolvida no metabolismo de bases púricas, capaz de catalisar a desaminação da adenosina, formando inosina como produto (Figura 4) (Fox & Kelley, 1978; Rodrigues *et al.*, 1994).



**Figura 4:** Reação de desaminação de adenosina formando inosina, catalisada pela enzima Adenosina Deaminase. Modificado de Fox & Kelley, 1978.

Pacientes com deficiência na produção de ADA desenvolvem uma imunodeficiência combinada (Giblett *et al.*, 1972). Ambas as respostas imunes, humoral e celular, desses pacientes com severas deficiências imunodepressoras, apresentam uma diminuição do número de linfócitos no sangue periférico (Wara & Ammann, 1975). Sua participação na proliferação de linfócitos foi bem demonstrada por Hovi *et al.*, (1976), que expôs linfócitos normais do sangue periférico de humanos a um agente mitogênico em comparação com o efeito da coformicina, um potente inibidor da ADA. Com isso, observou-se a diminuição na proliferação de linfócitos nas culturas tratadas com coformicina, que não responderam ao agente mitogênico, em contraste com o aumento da atividade enzimática provocada pelo agente mitogênico sem tratamento com coformicina, comprovando sua importância na resposta mitogênica e antigênica de linfócitos (Hovi *et al.*, 1976). A ADA também catalisa a desaminação de diversos outros nucleosídeos de adenina, e tem sido utilizada comumente como mediador da resposta imune (Murphy *et al.*, 1981).

### **1.5.2 Óxido nítrico (NO), um mediador vasoativo**

Em 1980, Furchgott descobriu o NO como um fator liberado das células endoteliais que causava vasodilatação, e que antigamente era denominado fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF) (Palmer *et al.*, 1997 **apud** Robbins & Grisham, 1997, pp. 857).

Posteriormente, foi observado que este fator tratava-se do NO, um gás solúvel, produzido não apenas por células endoteliais, mas também por macrófagos e neurônios específicos no cérebro, atuando de maneira parácrina sobre células-alvo (Robbins *et al.*, 2000). Este é formado pela clivagem do aminoácido essencial L-arginina, formando NO e L-citrulina (Moncada & Higgs, 1993, **apud** Robbins & Grisham, 1997, pp. 858; Moncada, 1993).

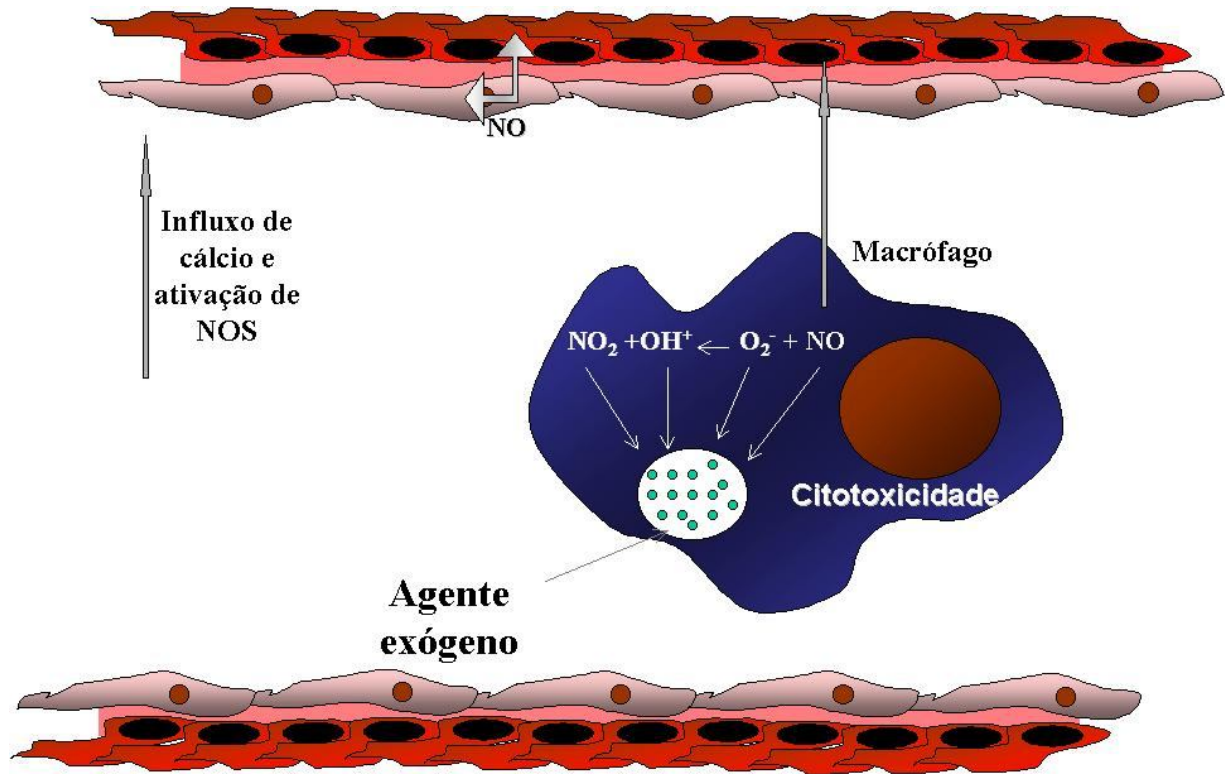
Dessa forma, o NO está envolvido nos processos fisiológicos de vasodilatação, neurotransmissão e inflamação. É gerado pela atividade da enzima óxido nítrico sintase (NOS) que pode ser encontrada em três isoformas sendo uma induzida e duas constitutivas (Moncada, 1993; Bredt & Snyder, 1994). A óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), é dependente de Cálcio e é expressa constitutivamente por células endoteliais e não-endoteliais; a óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) também é expressa constitutivamente e é predominantemente encontrada em tecido neural; e a óxido nítrico sintase induzida (iNOS) é induzida por lipopolissacarídeo de bactéria ou citocinas como, por exemplo, fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) (Robbins, & Grisham, 1997; Bredt & Snyder, 1994).

É proposta uma diversidade de atividades biológicas para este gás e bem estabilizado o papel do óxido nítrico no endotélio vascular que medeia o relaxamento da musculatura vascular pelo aumento da formação de monofosfato de guanilato ciclase (Figura 05). No cérebro este atua como neurotransmissor mediando

a ativação de glutamato (Moncada & Higgs, 1993, **apud** Robbins & Grisham, 1997, pp. 858). Em processos inflamatórios o NO modula reações inflamatórias agudas e crônicas e outros processos do sistema imunológico (Goodwin, *et al.*, 1999), como por exemplo a sua atividade antimicrobiana e citotóxica quando liberado por macrófagos (Figura 5) (Moncada, 1993; Laskin & Laskin, 2001).

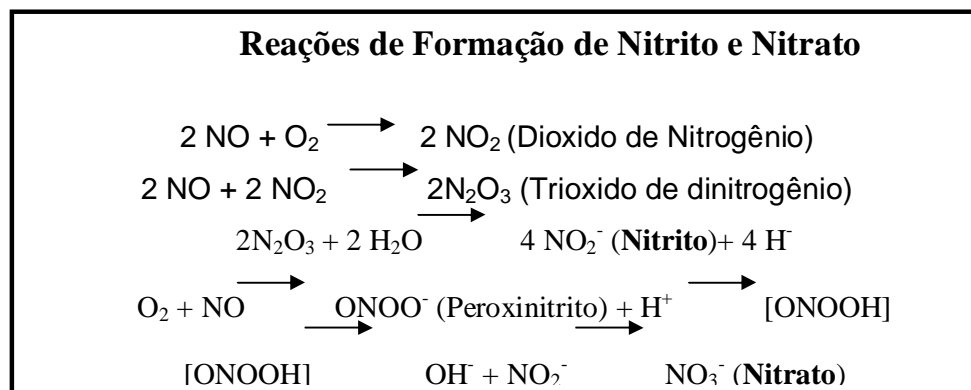
Nas reações biológicas, a enzima NOS tende sempre a produzir complexos químicos mais estáveis, como a formação de peróxido nítrico, grupos tióis em proteínas e a nitração de resíduos de tirosina em proteínas, com o intuito de diminuir a toxicidade dentro da célula (Bred & Snyder, 1994; Moncada, 1993).

Os produtos finais da formação do NO *in vivo* são o nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) (Figura 6). A proporção de  $\text{NO}_2^-$  é encontrado no meio reacional em quantidade suficiente para ratificar a presença de NO (Marletta, 1989). A formação de espécies reativa de nitrogênio é importante na determinação das atividades antiinflamatórias e inflamatórias do óxido nítrico (Sautebin, 2000). Como exemplo para esta interação, Asanuma *et al.*, verificaram que os radicais de NO podem ativar COX1 e COX2 aumentando a produção de PGs que pode agravar processos inflamatórios (Asanuma *et al.*, 2001).



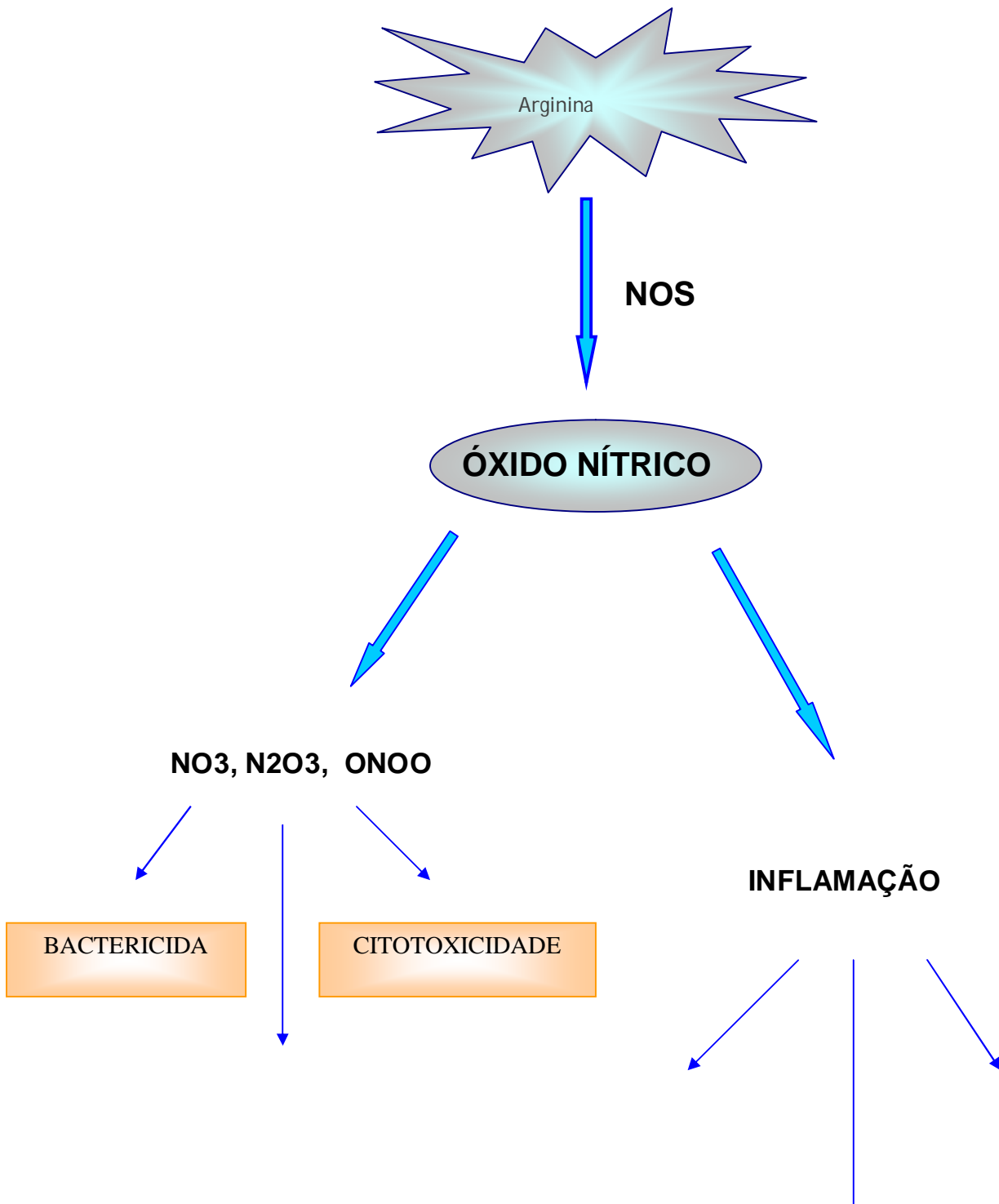
### Endotélio Vascular

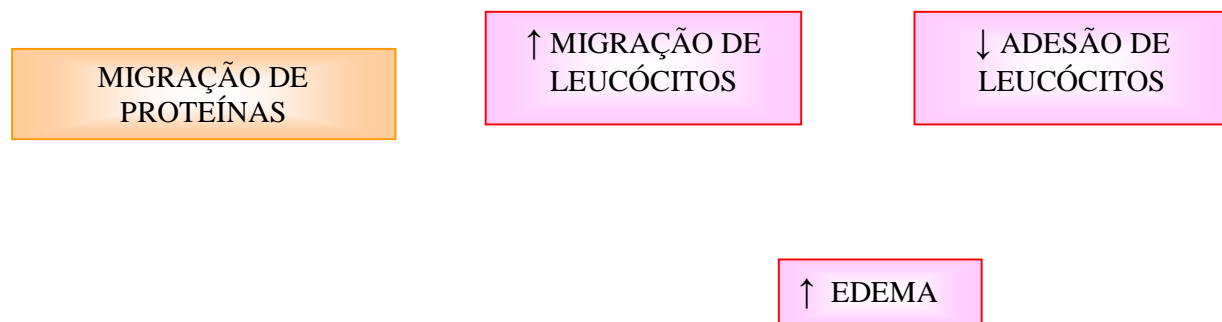
**Figura 5:** Desenho esquemático das duas isoformas de NOS. NOS endotelial (esquerda) e NOS induzida (direita). O NO causa vasodilatação e os radicais livres do NO causam citotoxicidade Modificado de Robbins, 2000.



**Figura 6** Reações de formação de nitrito e nitrato. Modificado de Marletta, 1989







**Figura 7:** Esquema resumido da formação e função do NO. Modificado de Robbins & Grisham, 1997.

### 1.5.3 Prostaglandinas (PGs): Eicosanóides de funções variadas.

As PGs são potentes moléculas lipídicas que regulam numerosos processos no organismo, incluindo funções renais, agregação plaquetária, liberação de neurotransmissores e modulação da resposta imune.

Os produtos do metabolismo do ácido aracdônico são importantes reguladores da atividade de macrófagos e na relação de cooperação entre macrófagos e linfócitos, entre outras atividades. Muitos estudos têm sido desenvolvidos, e mostram que as PGs, como discutido anteriormente, apresentam um efeito inibitório na liberação de hidrolases lisossomais em macrófagos humanos, assim como na locomoção e atividade fagocitária destas células (Bonta, *apud* Ninnemann, 1988). A formação de PGs foi descrita anteriormente (ver Figura 2). Daremos ênfase na atividade da PGE<sub>2</sub> pois, esta

foi escolhida no presente trabalho como marcador bioquímico para estudar a via de formação de ácido aracdônico em nossa pergunta experimental.

A PGE<sub>2</sub> pode atuar como um agente pró-inflamatório causando vasodilatação, com aumento de formação de edema, por ser um agente que aumenta a permeabilidade vascular como a bradicinina e a histamina (Willians & Peck, 1977; Appleton, 1996) e, como efeito colateral, úlcera gástrica, insuficiência renal e retenção de sal e água pela diminuição da ação do hormônio antidiurético (Insel, 1991). No cérebro os níveis de PGE<sub>2</sub> são detectáveis em concentração muito baixa em condições normais, mas suas concentrações podem ser alteradas em processos neuroinflamatórios como demência associado a AIDS e esclerose múltipla (Fretland, 1992).

Altos níveis de PGE<sub>2</sub> pode afetar vários tipos celulares podendo regular a função de macrófagos, microglia e linfócitos durante processos imunes e inflamatórios. Com isso a interação entre PGE<sub>2</sub> e outros fatores, incluindo citocinas pró-inflamatórias e antiinflamatórias, é bem descrita inclusive influenciando na resposta imune e inflamatória (Nakatani *et al.*, 2002).

Nos mecanismos de nocicepção, as PGs também são detectadas. A administração periférica de capsaicina ou a exposição a estímulos inflamatórios provoca um aumento dos níveis de PGs no cordão espinhal, assim como a expressão gênica de ciclooxigenase 2 (Millan, 1999). Acredita-se que a PGE<sub>2</sub> é o principal PG pró-nociceptiva, pois, esta atua em quatro distintos receptores: EP1, EP2, EP3, e EP4. Sabe-se que, EP1 e EP3 são encontrados em neurônios sensoriais localizados na lâmina superficial do corno dorsal (localização de neurônios que promovem nocicepção); EP2 e EP3 promovem como efeito após ativação hiperalgesia (Oka, *et*

*al.*, 1997 **apud** Millan, 1999, pp. 20). Estas são evidências consideráveis que vinculam a formação de PGs com inflamação e dor.

## 1.6. DROGAS USADAS NA SUPRESSÃO DE REAÇÕES INFLAMATÓRIAS.

Nesse último século, podemos observar um grande avanço no conhecimento de patologias existentes e com isso, o emprego de novas drogas que controlam os mecanismos destas patologias. Muitas vezes, as drogas desenvolvidas para combater essas enfermidades e fazer regredir tais patologias provocam efeitos colaterais que prejudicam o seu uso. As drogas antiinflamatórias estão entre os agentes terapêuticos mais usados, podendo também possuir efeitos antipiréticos e analgésicos, que depende da potência do antiinflamatório a ser utilizado.

Os antiinflamatórios são vastamente utilizados na terapêutica contra o mal da gota, artrite reumatóide, processos alérgicos e febres. Mais comumente, tem sido relatadas uma elevada incidência de efeitos colaterais, principalmente no fígado, rins, baço, sangue e medula, sendo que dentre os efeitos mais observados estão às náuseas, vômitos, nefrite crônica, catarata, miopatia, distúrbios comportamentais, insônia e fadiga (Dale, 1993). Os mecanismos que levam a estes efeitos desagradáveis não são conhecidos. Daí a necessidade de se buscar novos fármacos que reduzem ou não tenham estes efeitos.

### 1.6.1. Drogas antiinflamatórias não esteroidais (DAINEs)

A droga antiinflamatória não esteroideal, é um dos grupos de drogas mais frequentemente utilizada. O ácido salicílico é a droga eleita desta classe e serviu como base para a síntese de vários salicilatos. Este foi quimicamente sintetizado em 1860 e foi proposto um extensivo uso como anti-séptico, antipirético e antireumático (Vane *et al.*, 1998). Nos primeiros anos de 1900 as ações terapêuticas da aspirina foram reconhecidas como antipirético, antiinflamatório e analgésico. Com o passar do tempo, foram descobertas várias outras drogas que compartilham de algumas ou todas as ações, incluindo fenacetina, acetaminofen, fenilbutazona e mais recentemente indometacina e ibuprofeno (Flower, **apud** Vane *et al.*, 1998, pp.2).

As classificações das DAINEs eram realizadas apenas pela categoria química ou biológica destas drogas: salicilatos, *p*-aminofenóis, indoles, ácido heteroaril acético e ácido enólicos ou pelos seus efeitos gastrointestinais e agregação plaquetária, mas estas classificações foram insuficientes (Frölich, 1997). Com a descoberta da isoforma induzida da ciclooxigenase (COX-2) em 1992 (Xie, **apud** Mitchell, 1994, pp. 11693), a classificação foi modificada e a que atualmente vigora é a que divide os DAINEs em inibidores seletivos para ciclooxigenase 1 e/ou 2 (Frölich, 1997; Mitchell, 1994).

Em 1963, Winter *et al.*, testaram os efeitos da indometacina pelo método de edema de pata e compararam com diversos agentes antiinflamatórios usados. Naquela oportunidade, demonstraram a atividade antiinflamatória e antipirética da indometacina e a indução de irritações gastrointestinais e retenção de líquido, nos animais experimentais. Tentaram também propor um mecanismo de ação para a droga, afirmando que sua ação é independente da estimulação da glândula pituitária e adrenal (Shen *et al.*, **apud** Winter *et al.*, 1963).

O ácido 1-(p-clobenoil)-5-metoxi-2-metil-indole-3 acético, indometacina, é uma droga antiinflamatória não esteroideal, e atualmente sabe-se que, a sua atividade é devido à inibição da COX, a enzima responsável pela biossíntese das PGs (Campbell, 1990) mas, apesar de inibir as duas enzimas, COX-1 e COX-2, esta droga pode ser 50 vezes mais seletiva para COX-1 do que COX-2 (Mitchell, 1994).

Giuliano *et al.* (2001), demonstraram com experimentos *ex vivo*, que a capacidade destas drogas em serem seletivas por uma das isoformas da ciclooxigenase em humanos, varia conforme a dosagem e a farmacocinética destes medicamentos e isto também influenciará na relação entre a atividade biológica e a toxicidade gastrointestinal.

Dentre outras atividades, os DANes inibem a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares (Insel, 1991), bloqueando a ação vasodilatadora da inflamação. A redução da vasodilatação apresenta efeito indireto sobre a formação de edema local, decorrente do efeito sinérgico que a vasodilatação induzida por PGs exerce sobre outros mecanismos de aumento da permeabilidade vascular (Dale, 1993).

## 1.7. NOCICEPÇÃO: UM MECANISMO DE PROTEÇÃO.

A dor é definida como uma desagradável sensação aliada a uma experiência emocional associada com um atual ou potencial dano tecidual (Millan, 1999; Rainville, 2002). Isto sugere que a dor é uma experiência subjetiva que relaciona o comportamento e a neurobiologia ou seja, a sensação de dor é uma complexa interação de mecanismos onde o estímulo nocivo é codificado em uma mensagem nociceptiva e esta é transmitida e processada

nos centros neurais., eventos modulatórios ocorrem na periferia do corno dorsal no cordão espinhal (primeiro processamento) e posteriormente é transmitida para o tálamo (segundo processamento) (Millan, 1999) e como resposta, a sensação de retirada e as mudanças comportamentais são bem evidentes (Huci-Yann *et al.*, 2001).

Apesar de estarem estritamente relacionadas, existe uma distinção entre nocicepção e dor: nocicepção refere-se à recepção de sinais pelo sistema nervoso central evocado pela ativação de receptores sensoriais especializados (nociceptores) que recebem a informação do tecido lesado, mas nem todos os estímulos que chegam aos nociceptores são codificados a dor. Enquanto que, a dor é a percepção aversiva e desagradável, como descrito acima, originada de alguma parte do corpo (Jessell & Kelly, 1991).

A persistência da dor, acompanha – e pode exceder em duração – inflamação no tecido lesado e/ou danos no nervo, estes processos são caracterizados por um comportamento espontâneo e pela presença de hiperalgesia<sup>2</sup> e/ou alodinia<sup>3</sup>.

A sensação de dor é essencial para a proteção externa, pois sinaliza ao organismo a penetração de objetos perfuro-cortantes, queimaduras e traumas. As pessoas com deficiência congênita nos mecanismos fisiológicos da dor geralmente não ultrapassam a infância, os menores ferimentos lhes causam grandes sangramentos e infecções, a não ser quando descobertos por um adulto. Os ferimentos ou traumas podem ser agravados pela própria criança,

---

<sup>2</sup> Aumento da dor iniciada pelo estímulo nocivo. É a elevação da resposta provocada pela diminuição do limiar de resposta do nociceptor promovido pelo estímulo nocivo.

<sup>3</sup> Dor evocada por estímulo inócuo. Alguns autores consideram a alodinia como uma extensão da hiperalgesia.

já que esta é desprovida da sensação de dor. A ativação dos nociceptores é, com isso, um mecanismo de demarcação de limites para o organismo, e de aviso sobre a ocorrência de estímulos lesivos provenientes do meio externo ou do próprio organismo (Lent, 2001).

### **1.7.1 Nociceptores são ativados por estímulos mecânicos, químicos e térmicos.**

Estímulos nocivos aplicados à pele ou ao tecido subcutâneo sensibilizam receptores específicos e vias aferentes da dor. A dor é mediada por diferentes classes de fibras aferentes nociceptivas. Nociceptores térmicos e mecânicos são de pequeno diâmetro denominado fibras A-delta (A $\delta$ ) mielínicas de pequeno calibre, com condutância de 5-30m/s. A ativação destes nociceptores é associada com a sensação de dor do tipo somática, proveniente de objetos pontiagudos e picadas, que caracteriza-se com uma sensação intensa, localizada e cortante ou em ferroadas. Estas fibras penetram na medula espinhal através do corno dorsal, onde terminam principalmente na lâmina I da medula (Dewey *et al.*, 1991).

Os nociceptores polimodais, são ativados por estímulos mecânicos, químicos, calor e frio de alta intensidade. São fibras de pequeno diâmetro, amielínicas com condutância de 0,5-2m/s, chamadas fibras C (Jessell & Kelly, 1991) que também penetram na medula espinhal através do corno dorsal, onde sobem pelos tratos paleoespinalâmico e neoespinalâmico e terminam principalmente na camada externa da lâmina II. Estas medeiam a dor do tipo visceral que se caracteriza



como uma sensação difusa, constante ou em queimadura (Dewey *et al.*, 1991). Ambas as fibras A $\delta$  e C, são amplamente distribuídas na pele assim como nos tecidos mais profundos. Não há nociceptores para luz, embora algumas fontes muito intensas provoquem dor pela ação do calor que emitem junto com a luz. Sons muito intensos podem provocar dor por atingirem os nociceptores situados nas estruturas vibráteis do ouvido (Lent, 2001).

### 1.7.2. Dor aguda e Dor Crônica

Pensando em uma agulha lesando a epiderme, podemos distinguir dois tipos específicos de dor, a primeira vista, ao encostar a superfície pontiaguda da agulha na epiderme temos a sensação da **dor aguda** ou **rápida** (Rainville, 2002), em seguida se for pressionada com mais força, o objeto fere a pele desencadeando processos bioquímicos que culminam na cascata inflamatória, que caracteriza a **dor lenta** ou **subcrônica** (Millan, 1999).

A **dor aguda** reflete a fase de ativação dos nociceptores por um estímulo potencialmente danoso. Este estímulo, na pele, promove a retirada motora e/ou reação de alerta, que é uma reação protetora com a intenção de eliminar o estímulo nocivo sanando a dor, ou seja, a dor aguda é reconhecida como a primeira fase do processo de nocicepção onde é enfatizado a mudança comportamental, a resposta endócrina e a ativação simpática (Traub, 1997; Millan, 1999). Quando o estímulo permanece, a dor aguda é prolongada estabelecendo-se a **dor subcrônica**, o estado doloroso é mais intenso e o

processo inflamatório é ativado. Esta é associada a pequenas inflamações, traumas e pequenas incisões (Millan, 1999).

A **dor crônica** afeta geralmente indivíduos enfermos, onde a dor é relacionada com doenças degenerativa, desordens metabólicas ou doenças terminais, podendo ser considerada como uma conseqüência secundária e adaptativa das fibras aferentes envolvidas na área lesada (Millan, 1999). As fibras aferentes periféricas estão associadas com a indução e liberação periférica de neuropeptídeos que irão exercer diversas funções como, por exemplo, vasodilatação local. Importante enfatizar que a liberação central e periférica destes neuropeptídeos promove a potencialização da transmissão da informação nociceptiva (Goff *et al.*, 1998) e em conjunto, a ativação de células do sistema imune e liberação de citocinas e outros mediadores que provocam nocicepção associada com inflamação ou o agravamento da lesão na fibra aferente periférica (Rainville, 2002). Assim é correto falar que a dor crônica está associada a processos patológicos e a dor aguda/subcrônica está associada a processos fisiológicos (Millan, 1999) (Ver Tabela 1).

<b>Característica</b>								
<i>Tipo</i>	<i>Duração</i>	<b>Temporal e relação com a causa</b>	<b>Principais Características</b>	<b>Classe</b>	<b>Origem da dor</b>	<b>Valores adaptativos</b>	<b>Resposta adaptativa</b>	<i>Exemplo</i>
<i>Fase Aguda</i>	Segundos	Instantâneo e/ou simultâneo	Proporcional a causa	Nocicepção	Ativação passageira do nociceptor	preventivo	Resposta de retirada e escape	Contato com superfície quente
<b>Prolongada Subcrônica</b>	Horas até Dias	Anterior ao Período de recuperação	1ª e 2ª fase; Hiperalgisia; alodinia; dor espontânea	Principalmente Nocicepção, mas algumas vezes neuropática	Ativação do nociceptor e liberação de citocinas e neuromoduladores	Protetor para recuperação	Resposta baseada em evitar o tecido lesado	Ferida inflamada
<b>Crônica Clínica</b>	Meses até Anos	Persistente, em longo prazo podem exceder resolução de dano de tecido	1ª e 2ª fase; Hiperalgisia; alodinia; dor espontânea; Parastesia e distesia; mudança comportamental permanente	Nocicepção e neuropáticas	Ativação do nociceptor e intensa liberação de citocinas e neuromoduladores	Nada mal adaptada	Principalmente, resposta psicológica e cognitiva	Artrite, Danos no sistema Nervoso Central; Metastases

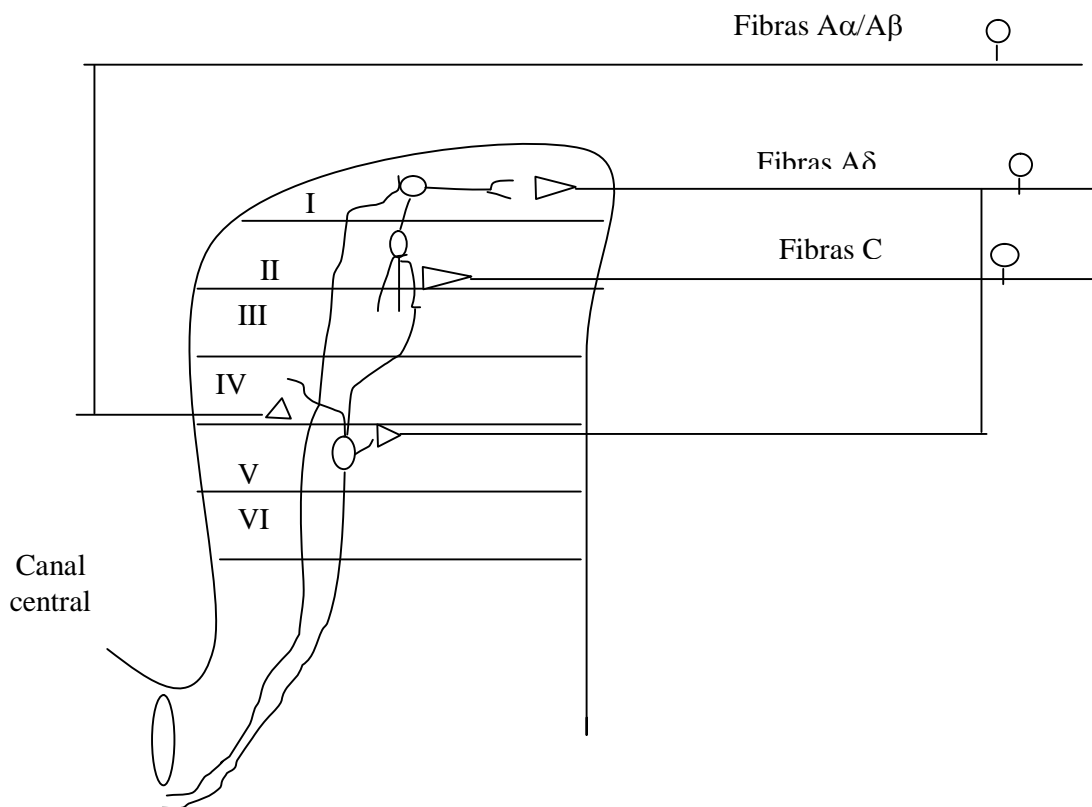
**Tabela 1:** Características gerais e classificação dos três tipos de dor: Aguda, subcrônica e crônica

### **1.7.3 Mecanismos Periféricos da dor.**

Na dor do tipo aguda ocorre a ativação principalmente de fibras do tipo delta, que podem ser sensíveis a estímulos mecânicos e térmicos. Em ambos os estímulos um potencial de ação é desencadeado nas extremidades livres e conduzidos ao longo das fibras delta. Na dor lenta, a lesão além de estimular os nociceptores pode ativar um processo inflamatório que desencadeara a proliferação de leucócitos para o local lesado e mastócitos que produzem e secretam substâncias algogênicas (que provocam a dor), como a serotonina e a histamina. As próprias células do tecido atingido liberam bradicininas e prostaglandinas. Os nociceptores atingidos tanto com a agulha diretamente como pelas substâncias liberadas são principalmente terminações livres de fibras C que são polimodais. As despolarizações dos nociceptores provocam a liberação de PGs e neuropeptídeos com ação vasodilatadora local, que acentuam a vermelhidão e o edema, prolongando a dor (Dewey *et al.*, 1991; Lent, 2001; Rainville, 2002).

### **1.7.4. Mecanismo Central da dor.**

A sensação de dor no tecido periférico é promovida pelo processo de hiperalgesia desencadeado pela sensibilização de um estímulo de baixo limiar ou por um supra-limiar nos nociceptores, o mecanismo de hiperalgesia pode resultar em mudanças na eficácia sináptica dos terminais centrais de neurônios aferentes que se projetam para o cordão espinhal e para o cérebro (Jessel & Kelly, 1991). Nas vísceras e áreas periféricas, os nociceptores são encontrados formando botões receptivos das fibras aferentes que convergem de projeções neuronais provenientes do corno dorsal. Ambas fibras A $\delta$  e C, se bifurcam na entrada do cordão espinhal e terminam primariamente na superfície do corno dorsal, que compreende a zona marginal (Lamina I) e substância gelatinosa (Lamina II), mas algumas fibras A $\delta$  são projetadas mais profundamente e terminam na lâmina V (Figura 8) (Millan, 1999).



**Figura 8:** Localização e projeções neuronais das fibras aferentes no corno dorsal do cordão espinhal. Modificado de Jessell & Kelly, 1991.

Após a entrada no corno dorsal, as projeções seguem para áreas cerebrais através de cinco vias específicas que saem de diferentes lâminas, [1] a **via do trato espinotalâmica**, que se origina nas lâminas I e V-VII e são compostas de axônios de neurônios específicos para nocicepção que terminam no tálamo (Figura

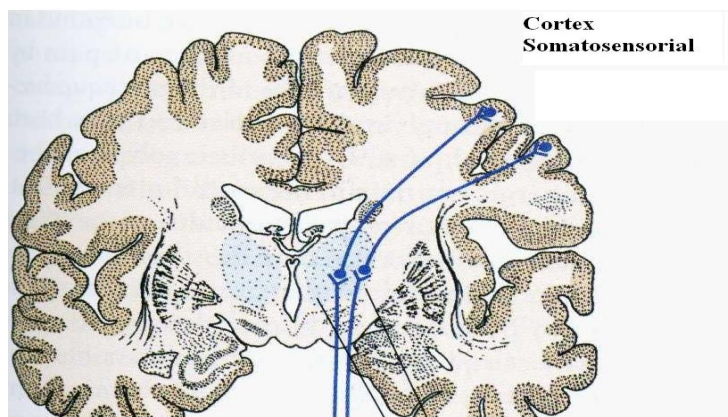
9); [2] a **via do trato espinoreticular**, que é formada por axônios da lamina VII e VIII que ascende do quadrante anterolateral do cordão espinhal para tálamo e formação reticular; [3] **via do trato espinomesencefálico**, que se origina com projeções axonais da lâmina I e V e seguem para a região cinzenta periaquedural com conexões para o hipotálamo através do sistema límbico; [4] a **via do trato espinocervical**, que é formada por axônios da lâmina III ou IV e se projetam para os núcleos mediais e tálamo, estas projeções, na sua maioria respondem a estímulos táteis ativáveis também por estímulos nocivos; [5] e por fim, a quinta via, de neurônios mielinizados da lamina III e IV, que se projetam para os núcleos cuneeto e grácil da medula (Jessell & Kelly, 1991).

Em decorrência do acima exposto, pensando em um estímulo inicial (dano ou inflamação) ocorre a ativação dos nociceptores locais, fibras A $\delta$  e C, que após serem sensibilizados têm os seus limiares reduzidos favorecendo a sensação de dor (Winkelstein, 2004). Além das respostas elétricas alteradas, os danos iniciam a síntese e liberação de mediadores inflamatórios que agem para induzir inflamação e edema como parte do processo de regeneração. Porém, estas atividades também sensibilizam nociceptores e recrutam nociceptores novos, aumentando a resposta (Dray & Perkins, 1993). Tais mediadores químicos incluindo, aminoácidos excitatórios, NO, bradicinina, PGs, histamina, e substância P. também são ativadores da expressão de citocinas na periferia em associação com dano de tecido e inflamação (Rainville, 2002; Winkelstein, 2004). Estes mediadores liberados contribuem para a resposta inflamatória, afetando respostas eletrofisiológicas da dor (Figura 10).

Como descrito anteriormente, as fibras aferentes primárias ativadas terminam no corno dorsal da espinha dorsal, e se comunicam com neurônios espinhais por transmissão sináptica. Neurotransmissores liberados (por exemplo, glutamato e substância P) modulam respostas pós-sinápticas, com neurotransmissão adicional para a região supraespinhal, mediada por vias ascendentes (Winkelstein, 2004). Danos teciduais, também podem provocar um aumento na excitabilidade dos neurônios da espinha dorsal (Winkelstein, 2004); associado com esta sensibilização está um limiar de ativação diminuído, ou seja uma resposta aumentada, e um aumento dos campos receptivos dos nociceptores (Wall, P., 1994 **apud** Winkelstein, 2004, pp. 88).

A ativação contínua das fibras aferentes nociceptivas, conduz o sinal aos circuitos espinhais, promovendo a sensibilização central, e mantendo um estado de dor crônica. Estas mudanças neuroplásticas são acompanhadas por manifestações eletrofisiológicas que aumenta a capacidade de transmissão sináptica e a excitabilidade elevada dos neurônios (Vanderah, 2001), o que promoverá a sensação de dor em toda área na periferia da lesão.

A dor persistente é o resultado da sensibilização do sistema nervoso central pela ativação repetitiva das fibras  $A\delta$ ,  $\beta$  e C, que estimulam neurônios pós-sinápticos para transmitir a sensação de dor do local do dano inicial a espinha dorsal, e em seguida as regiões supra-espinhais, como o tálamo e córtex cerebral (Winkelstein, 2004).



#### **1.7.5. Modelos experimentais de dor.**



O fenômeno da dor e o desenrolar de seu mecanismo é objetivo de estudo a um longo tempo. Os fenômenos irritantes e comportamentais são documentados em muitos experimentos em humanos e similares características são observadas num extenso número de animais (Kurihara, *et al.*, 2003).

A dor em humanos é mediada por diferentes classes de fibras aferentes nociceptivas. Nociceptores térmicos ou mecânicos, fibras A $\delta$  são mielinizadas, de pequeno diâmetro, com condutância de 5-30m/s e os receptores polimodais, fibras C são amielinizadas, com condutância de 0,5-2m/s, estas são ativadas por estímulos mecânicos,químicos, calor (temperatura maior que 45°C) ou frio intenso (Jessell & Kelly, 1991). Ambas fibras A $\delta$  e C são amplamente distribuídas pela pele e órgãos.

Para analisar a atividade de extratos e novos medicamentos, modelos químicos e físicos são utilizados como modelos clássicos para análises farmacológicas experimentais, com o intuito de caracterizar as vias e mecanismos de ativação das drogas testadas.

### 1.7.5.1. PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR ÁCIDO ACÉTICO.

Muitos estudos têm usado a injeção intraperitoneal de solução de ácido acético, como estímulo álgico para promover dor aguda em camundongos (Huci-Yann, 2001; Morteza-Semmani, 2002). Nesta metodologia, é observada a dor visceral, que é evidenciada por contrações musculares e/ou espasmos com rigidez da parede abdominal. Isto pode proteger as vísceras de trauma adicional, assim como a recuperação. Mais adiante, sensações de distensão e irritação gástrica do intestino também podem extrair respostas comportamentais neste teste (Millan, 1999).

### 1.7.5.2 PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR FORMALINA.

O teste da formalina foi introduzido em 1977, na farmacologia experimental (Shibata *et al.*, 1989) onde a injeção subcutânea de formalina produzia uma resposta bifásica em ratos. As quantificações eram baseadas em análises comportamentais onde o levantar, o lamber e/ou o sacudir da pata eram considerados indícios de respostas álgicas emitidas pelos animais (Tjolsen, *et al.*, 1992). O teste da formalina apresenta duas fases distintas de nocicepção, a primeira fase ocorre imediatamente após a aplicação intraplantar da solução de formalina (Cinco minutos iniciais) e a segunda fase corresponde aos vinte minutos após a injeção (Tjolsen, *et al.*, 1992). Atualmente, apenas o comportamento de lamber as patas são contabilizados (Pérez-Guerrero *et al.*, 2001) pois, este comportamento raramente é visualmente observado no comportamento de “grooming”, promovendo a esta característica uma evidência direta de processos álgicos (Tjolsen *et al.*, 1992).

### 1.7.5.3. PROCESSO ÁLGICO INDUZIDO POR ESTÍMULO TÉRMICO.

A aplicação aguda do estímulo térmico intenso na superfície corporal de um animal não anestesiado, promove uma resposta de escape na tentativa de remover o local estimulado pela fonte de calor. Acredita-se que, através de estímulo térmico adequado, é promovida a ativação de termorreceptores de limiar pequeno e fibras C polimodais, proporcional para intensidade de estímulo (Dirig *et al.*, 1997; Vierck *et al.*, 2003). Os reflexos comuns observados são, o comportamento de retirada e lambida das patas traseiras ou o “pulo de fuga” do animal em resposta a alta temperatura da placa quente (Woolfe & Mac-Donald, 1944 **apud** Dirig *et al.*, 1997).

A resposta de hiperalgesia promovida pelo teste, sugere a sensibilização de nociceptores térmicos, provavelmente devido à lesão periférica formada que se amplifica com a inflamação local, ou seja diminuindo a latência de resposta (Dirig *et al.*, 1997). A temperatura utilizada para promover este estímulo varia de 44-47°C (Vierck *et al.*, 2003) a 50-55°C (Morteza-Semmani *et al.*, 2002).

No presente trabalho, para verificar as possíveis atividades analgésica e antiinflamatória da espécie *Physalis angulata*, utilizaremos metodologias específicas para inflamação e analgesia. Exploraremos um modelo experimental de inflamação que foi desenvolvido recentemente (Tao *et al.*, 1999). Este modelo avalia não apenas uma análise volumétrica como na técnica de edema de pata, mas é também capaz de avaliar e

medir o próprio exsudato obtido da inflamação. O material do exsudato pode ser medido por diferentes técnicas e abordagens, o que favorece um acompanhamento da evolução do processo inflamatório. Medidas histológicas, bioquímicas e farmacológicas podem ser feitas para revelar o grau da infecção e o acompanhamento da ação da droga testada. Enquanto que para os processos álgicos, as metodologias a serem utilizadas são amplamente citadas na literatura, e apresentam a capacidade de caracterizar os processo de nocicepção induzidos por agentes químicos e físicos, assim como as dores do tipo aguda e subcrônica, através de modificações comportamentais visualmente diferenciadas e notificadas no momento do experimento.

Portanto, utilizamos como modelo experimental de dor de formalina, ácido acético e placa quente. Desenvolvemos também o modelo de inflamação de bolsa de ar (Tao *et al.*, 1999) com algumas modificações adaptadas às condições existentes no nosso Laboratório. Para testar o extrato aquoso de *Physalis angulata* e caracterizar as vias de inflamação e dor inflamatória, foram usadas medidas bioquímicas de mediadores químicos envolvidos no processo flogístico induzido pela carragenina. A ADA, os metabolitos do NO e a PGE<sub>2</sub> são alguns dos mediadores que foram utilizados no decurso do trabalho.

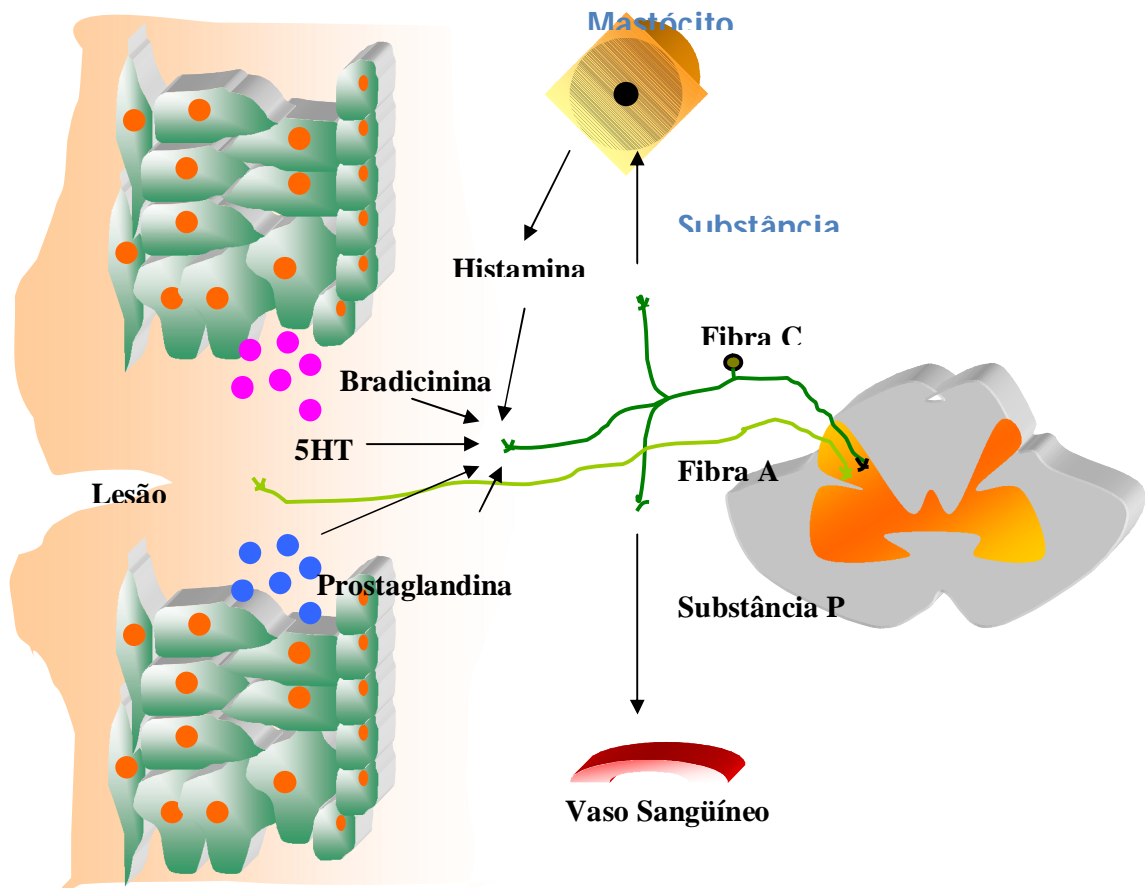


Figura 10: Esquema simplificado do mecanismo da dor. Modificado de Jessel & Kelly; 1991.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar os efeitos antiinflamatórios e analgésicos da espécie *Physalis angulata*, a partir do extrato aquoso liofilizado da raiz desta planta.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Padronizar um modelo experimental de inflamação com o intuito de verificar a possível atividade antiinflamatória.
- Monitorar o processo inflamatório através da medida da enzima adenosina deaminase e a dosagem dos metabólitos do óxido nítrico, nitrito e nitrato e dos níveis de prostaglandina.
- Caracterizar a possível atividade antinociceptiva do extrato em modelos químicos e físicos, de nocicepção.
- Propor possíveis mecanismos de ação do extrato testado.

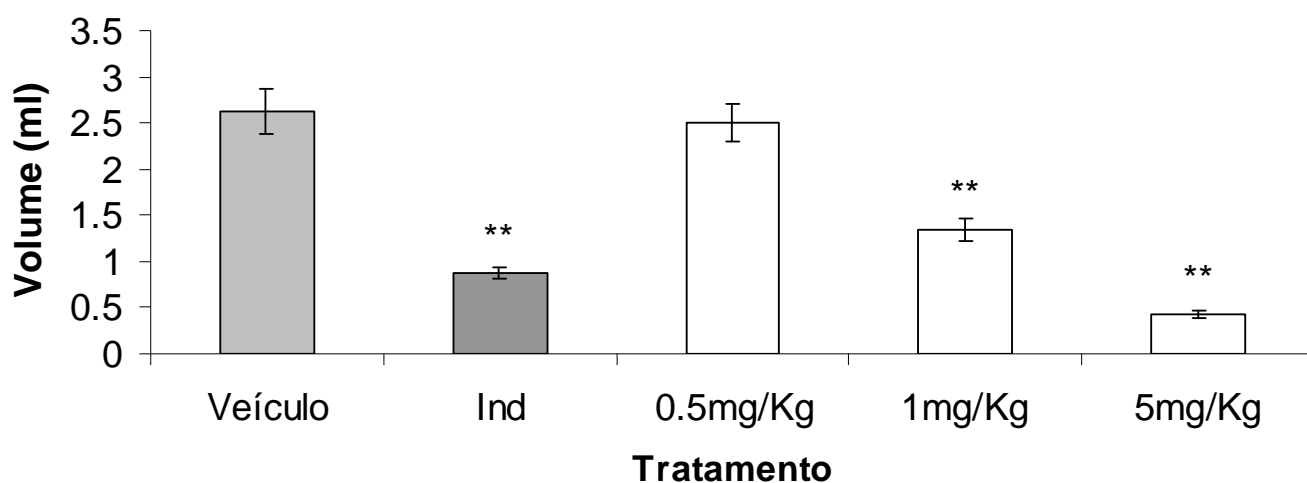
## 4. RESULTADOS

### 4.1. *PROLIFERAÇÃO CELULAR E VOLUME DE EXUDATO NOS GRUPOS TRATADOS COM EAPA.*

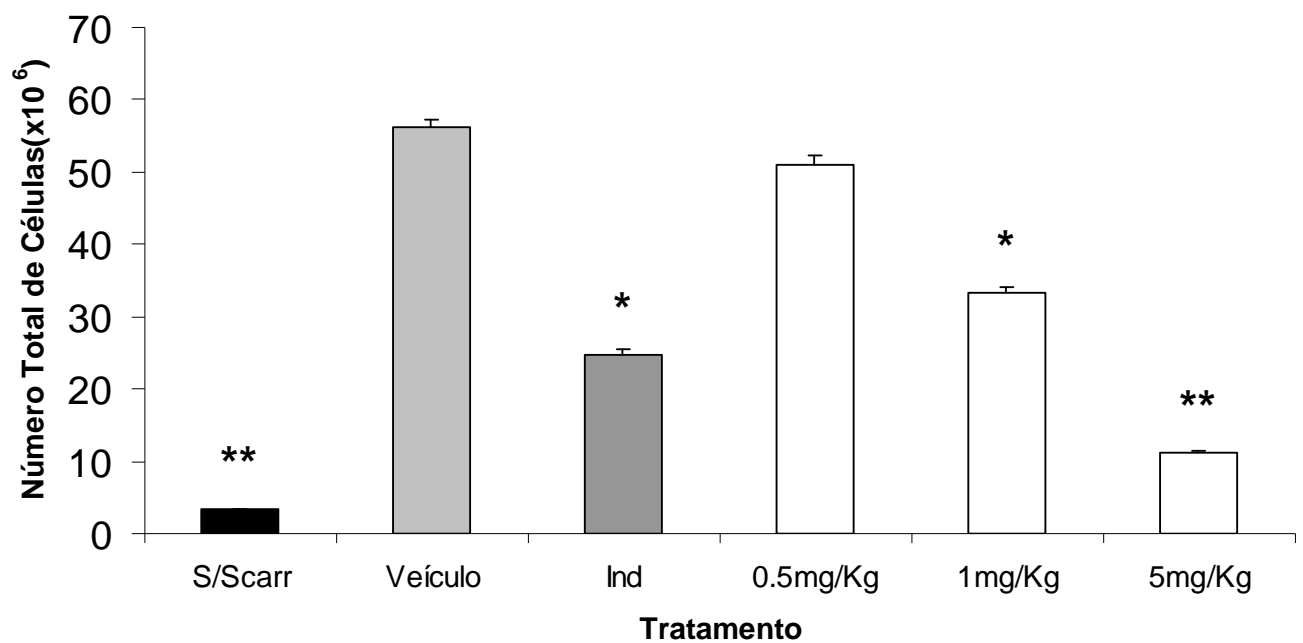
Os grupos tratados com veículo (NaCl a 0,9%), indometacina e EAPa, uma hora antes do agente flogístico, foram sacrificados por inalação com excesso de éter. A bolsa formada no dorso dos animais, foram abertas através de uma incisão para a retirada do exsudato formado.

No grupo tratado com extrato nas doses de 1 e 5 mg/Kg, foi observado que volume de exsudato e o número total de células inflamatórias obtidas da bolsa de ar foram suprimidos significativamente quando comparado com o grupo tratado com salina. O volume de exsudato foi reduzido em 50% e 84% (Figura 12), enquanto que o número total de células foi reduzido em 41% e 80% (Figura 13), quando tratados com as doses de 1mg/kg e 5mg/kg, respectivamente. Em contraste, a dose de 0,5mg/kg teve pouco efeito na exsudação plasmática e no processo de migração celular.

A migração celular é um mecanismo de defesa desencadeado nas reações inflamatórias, neste estudo as células migram de sangue para o interior da bolsa de ar. Este processo pode ser visualizado usando a metodologia de cultura células obtidas dos exsudatos. Um volume de 150  $\mu$ L de cada amostra, foram incubadas e cultivadas em DMEM suplementado com 10% de SBF, com o objetivo de observar a migração celular e poder correlacionar com os resultados de contagem do número de células (Figura 14). Observou-se que, nos grupos tratados com EAPa nas doses de 1mg/kg e 5mg/kg, ocorreu uma diminuição da migração celular em 73% e 87%, respectivamente, quando comparados com o grupo tratado com veículo, enquanto a dose de 0,5mg/kg não foi eficiente em bloquear a migração celular (Figura 14).

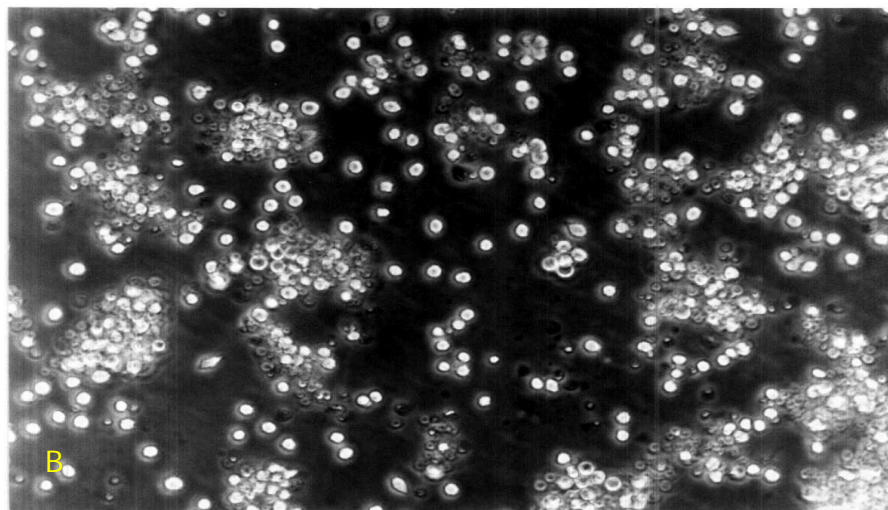
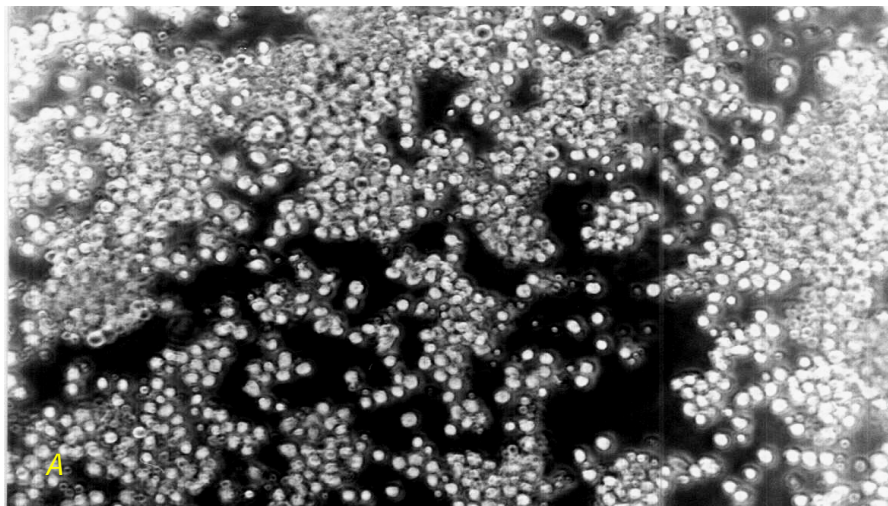


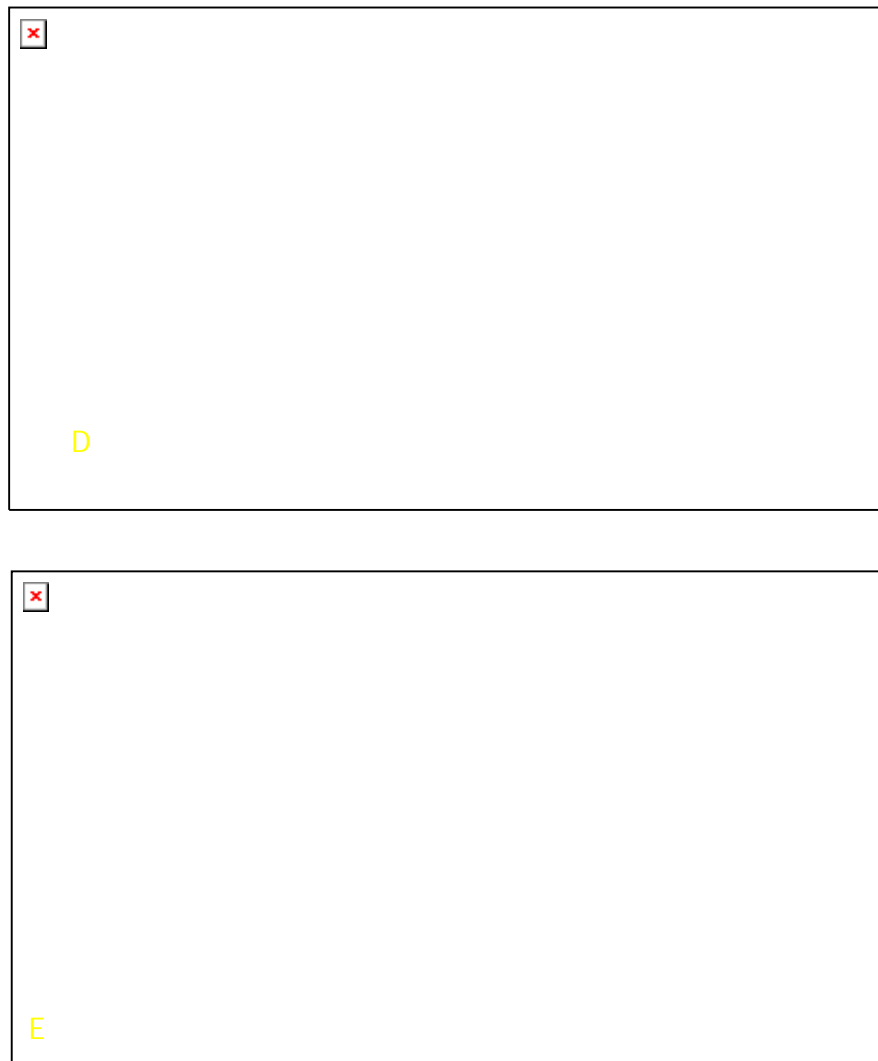
**Figura 12:** Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre o volume de exsudato induzido por carragenina em grupos tratados (0.5, 1 e 5mg/Kg) e controle (Veículo e Indometacina). Dados representados por média  $\pm$  EPM, de grupos com 10 animais cada. \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , comparado com o grupo controle (Veículo). Para estatística teste de Newman-Kuels.



**Figura 13:** Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre o número total de células do exsudato inflamatório induzido por carragenina em grupos tratados (0.5, 1 e 5mg/Kg) e controle (Veículo e Indometacina). Dados representados por média  $\pm$  EPM, de grupos com 10 animais cada. \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , comparado com o grupo controle (teste de Newman – Kewls).





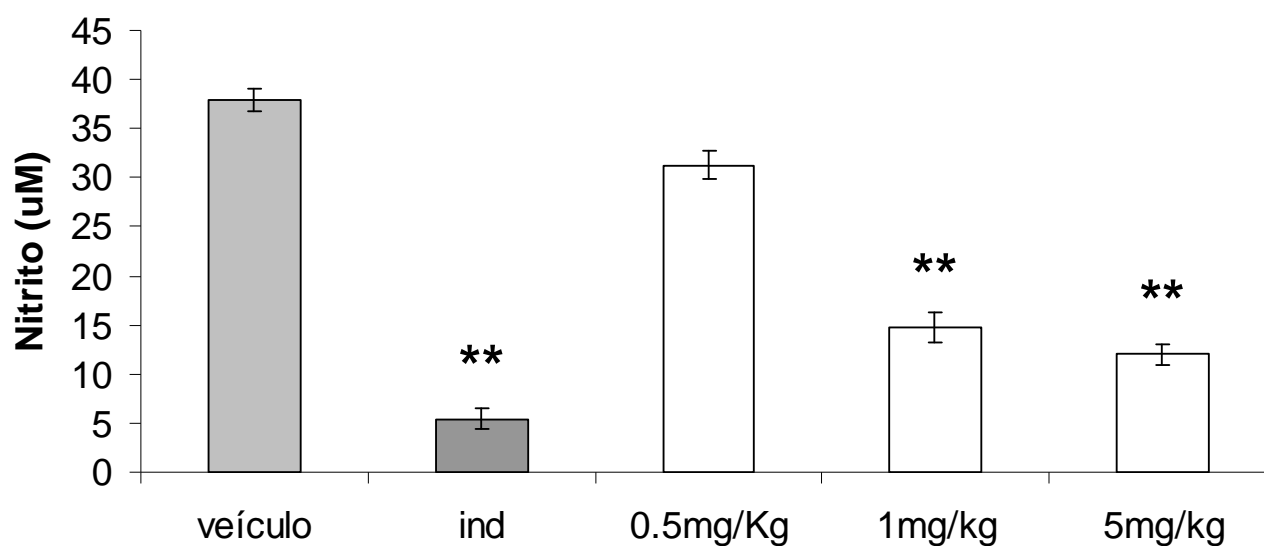


**Figura 14:** Efeito do extrato de *Physalis angulata* na migração celular. Inibição da migração celular nas culturas de exsudatos retirados da bolsa de ar após administração do agente flogístico, cultivado em DMEM: (A) Veículo; (B) Indometacina (10mg/Kg); (C) 0.5mg/Kg EAPa; (D) 1mg/Kg EAPa e (E) 5mg/Kg EAPa. Barra de escala =25 $\mu$ m.

#### 4.2. EFEITO DE EAPA NA PRODUÇÃO DE NO INDUZIU POR CARRAGENINA.

Para confirmar o efeito inibitório *in vivo* de EAPa sobre a carragenina foi avaliado o papel de NO, um mediador químico que promove vasodilatação e toxicidade em processos inflamatórios através das isoformas eNOS e iNOS, foi realizada análise fotolorimétrica para medir os níveis de nitrito em todas amostras recolhidas do exsudato.

Como mostrado na Figura 15, os níveis de nitrito detectados, foram de 37 $\mu$ M em exsudatos do grupo tratado com salina, enquanto que a produção de nitrito foi diminuída significativamente a 6 $\mu$ M no grupo controle positivo, tratado com indometacina. A produção de nitrito foi de 15 $\mu$ M e 12 $\mu$ M em animais tratados com EAPa nas doses de 1mg/Kg e 5mg/Kg, ou seja o extrato promoveu uma inibição de 41% e 68%, respectivamente. A dose de 0,5mg/kg apresentou pouco efeito na produção de metabólitos de NO.

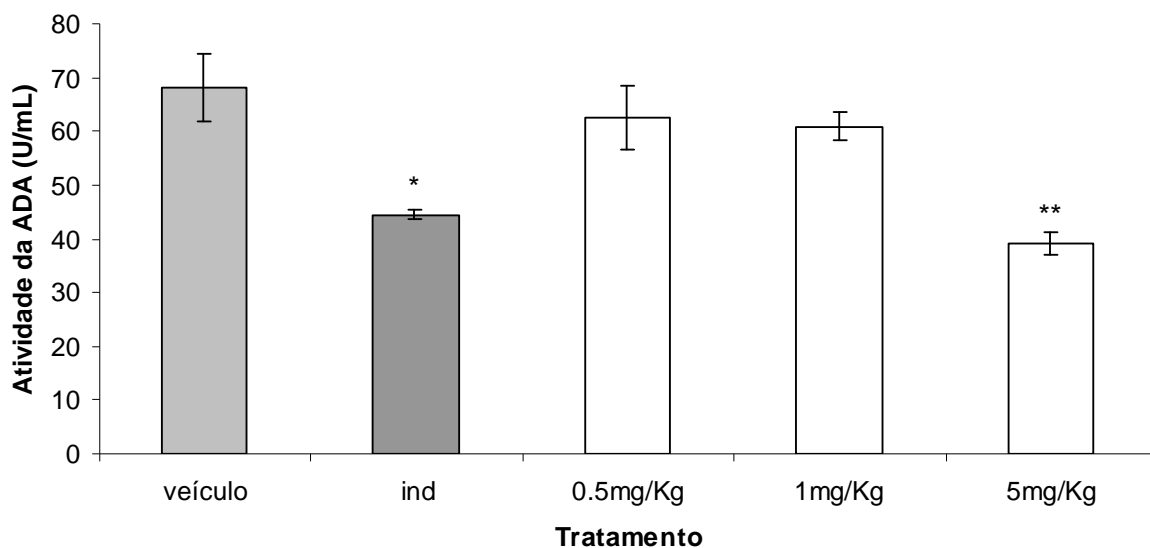


**Figura 15:** Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre a concentração de nitrito em exsudato inflamatório induzido por carragenina em grupos tratados (0.5, 1 e 5mg/Kg) e controle (veículo e indometacina). Dados representados por média  $\pm$  EPM, de grupos com 10 animais cada. \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , comparado com o grupo controle (teste de Newman – Kewls).

#### 4.3. *INIBIÇÃO IN VIVO DA ATIVIDADE DA ADA POR EAPa.*

A capacidade do EAPa em promover inibição em linfócitos T foi testada através atividade da ADA. Os ratos foram tratados através da injeção intraperitoneal de salina (1h antes de administração de carragenina) ou com EAPa (0,5mg/Kg, 1mg/Kg ou 5mg/Kg) e os exsudatos foram coletados, 16 h após a administração do agente flogístico.

Como mostrado na figura 16, a administração de carragenina promoveu um aumento na atividade de ADA (68 U/mL). em contraste nos animais tratados com EAPa nas doses de 0,5mg/Kg, 1mg/Kg e 5mg/Kg, a atividade de enzima foi reduzida a 10%, 20% e 43%, respectivamente. Para os grupos de 0,5mg/Kg e 1mg/Kg observou-se  $p > 0,05$  enquanto que, para o grupo de 5mg/Kg  $p < 0,01$ . É importante enfatizar, que a dose de 5mg/Kg apresentou um percentual de inibição equivalente ao grupo tratado com indometacina, onde foi observada uma inibição de 44%.

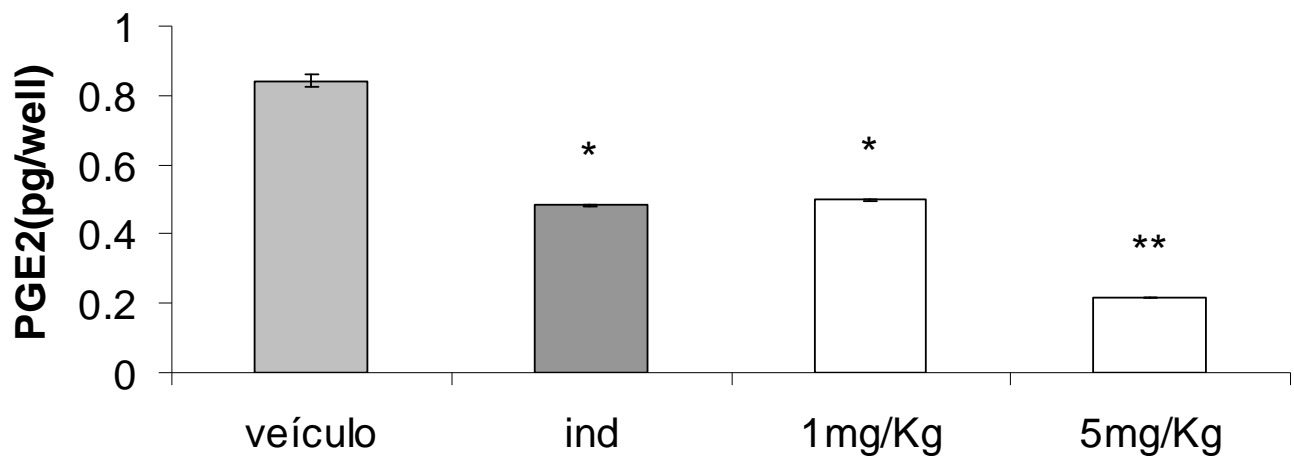


**Figura 16:** Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre a atividade da enzima ADA em exsudato inflamatório induzido por carragenina em grupos tratados (0.5, 1 e 5mg/Kg) e controle (veículo e indometacina). Dados representados por média  $\pm$  EPM, de grupos com 10 animais cada. \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , comparado com o grupo controle (Veículo). Para estatística teste de Newman – Kewls.

#### 4.4. *INIBIÇÃO IN VIVO DOS NÍVEIS DE PGE<sub>2</sub> POR EAPA.*

Um dos principais metabólitos da cascata do ácido aracdônico em processo inflamatório é a PGE<sub>2</sub>, que induz edema e eritema no processo inflamatório. Verificamos o efeito de EAPa sobre os níveis de PGE<sub>2</sub> em exsudato inflamatório.

Os ratos foram pré-tratados através da administração intraperitoneal de salina ou com EAPa nas doses de 0,5; 1 ou 5mg/Kg. Os exsudatos foram coletados, 16 hs depois de injeção do agente flogístico. Os resultados da Figura 17, demonstram que no grupo tratado com carragenina, os níveis de PGE<sub>2</sub> foram de 0,84pg/poço, enquanto que nos grupos tratados com EAPa nas doses de 1mg/kg e 5mg/kg observou-se uma inibição de 41% e 75%, respectivamente. Os níveis de PGE<sub>2</sub>, foram reduzidos em 50% no grupo tratado com indometacina. O extrato foi um pouco mais eficaz que a droga padrão.



**Figura 17:** Efeito do extrato aquoso de *Physalis angulata* sobre os níveis de PGE<sub>2</sub> em exsudato inflamatório induzido por carragenina em grupos tratados (0.5, 1 e 5mg/Kg) e controle (Veículo e Indometacina). Dados representados por média  $\pm$  SEM, de grupos com 10 animais cada. \* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ , comparado com o grupo controle (Veículo). Para estatística teste de Newman – Kewls.



#### 4.5. ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EAPa.

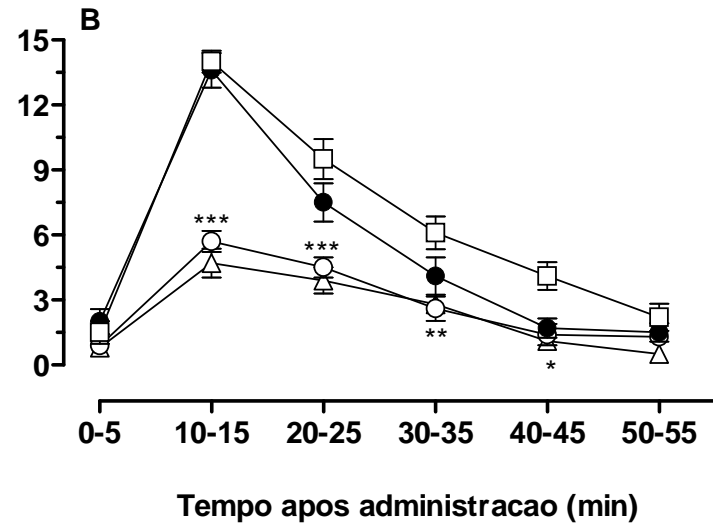
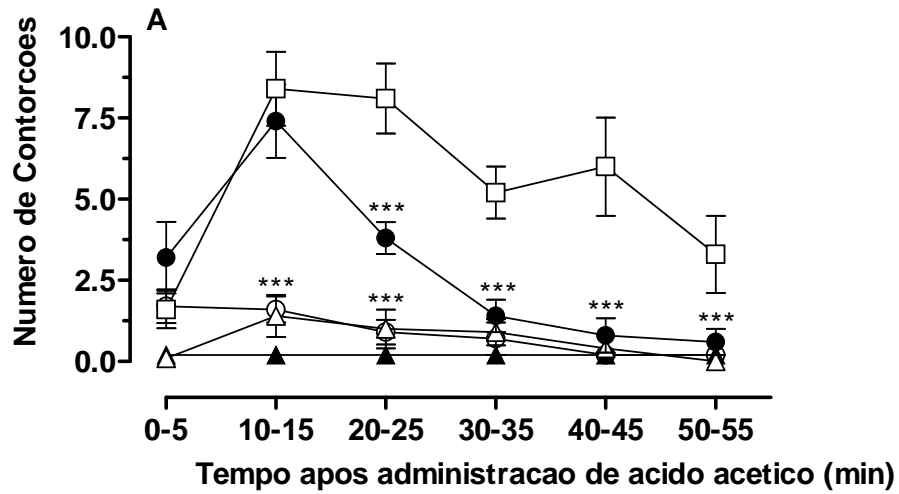
Os resultados na Figura 18 (A e B) mostram que EAPa administrado 30 minutos por via intraperitoneal ou 60 minutos por via oral nas doses de 10, 20 e 30 mg/kg antes da indução de nocicepção visceral por ácido acético, causou uma inibição dose-dependente em todos os períodos analisados. As médias dos valores de ID<sub>50</sub> calculados para estes efeitos foram de 18,5 (17,4-19,8) e 21,5 (18,9-24,4) mg/kg, com inibições de 83±8 e 66±5% para EAPa administrado por i.p. e p.o., respectivamente. O tratamento dos animais com morfina, 10 mg/kg, i.p., 30 minutos antes do agente álgico, também produziu inibição significativa e completa (100%) de resposta de nocicepção visceral induzida por ácido acético em todos os períodos analisados (Figura 18 A).

No experimento em que o processo nociceptivo foi induzido pela aplicação intraplantar de formalina a 1%, o EAPa foi administrado intraperitonealmente nas doses de 10, 20, 30 e 60 mg/kg e expressaram uma inibição dose-dependente produzida contra a dor inflamatória (segunda-fase), mas não contra dor neurogênica (primeira-fase) (Figura 19, A e B). As médias dos valores de ID<sub>50</sub> calculados avaliaram para a primeira fase média de 20,8 (18,4-23,4) mg/kg, e uma inibição de 100%. Atividade semelhantemente, foi observado no grupo tratado com indometacina (10 mg/kg, i.p.) causou inibição significativa (76±7%) da segunda fase, mas não na primeira fase, do processo

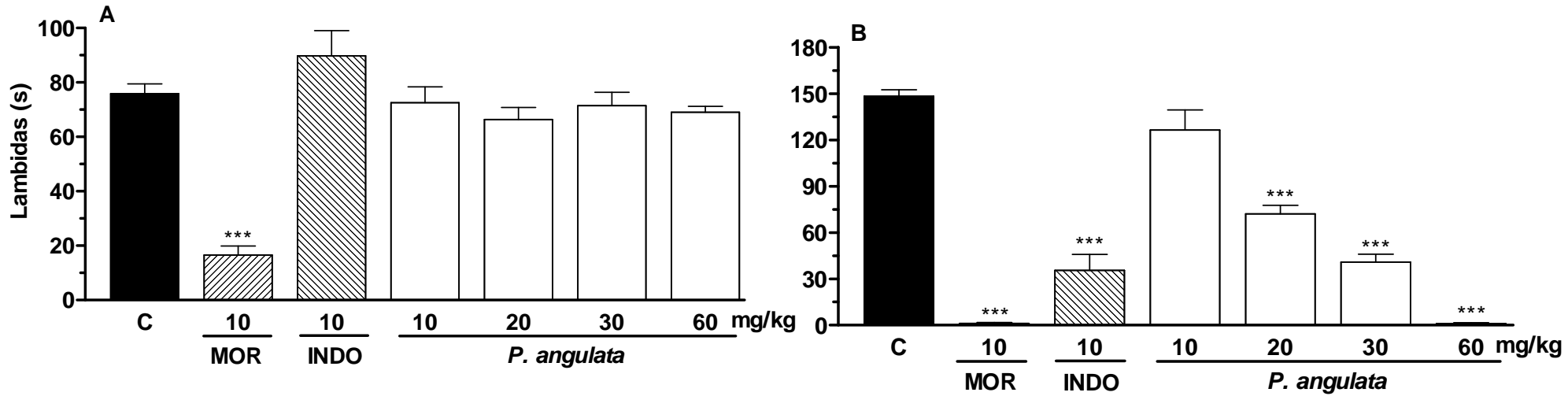
nociceptivo induzido por formalina (Figura 19, A e B). Em contraste, o tratamento dos animais com morfina (10 mg/kg, i.p.), determinado 30 minutos antes do agente álgico, promoveu inibição em ambas as fases: a neurogênica (primeira fase  $78\pm 4\%$ ) e dor inflamatória (segunda fase, 100%) do teste de formalina em ratos (Figura 19, A e B).

Os resultados na Figura 20 mostraram que, o tratamento dos animais com morfina (10 mg/kg, i.p.) proporcionou um aumento significativo na latência dos animais em todos os períodos de análise de acordo com a avaliação no teste de placa-quente, assim como, o tratamento i.p. com a dose de 60 mg/kg, produziu um aumento significativo na latência dos animais no teste de placa quente 1, 1,5 e 2 h antes da administração de EAPa (Figura 20).

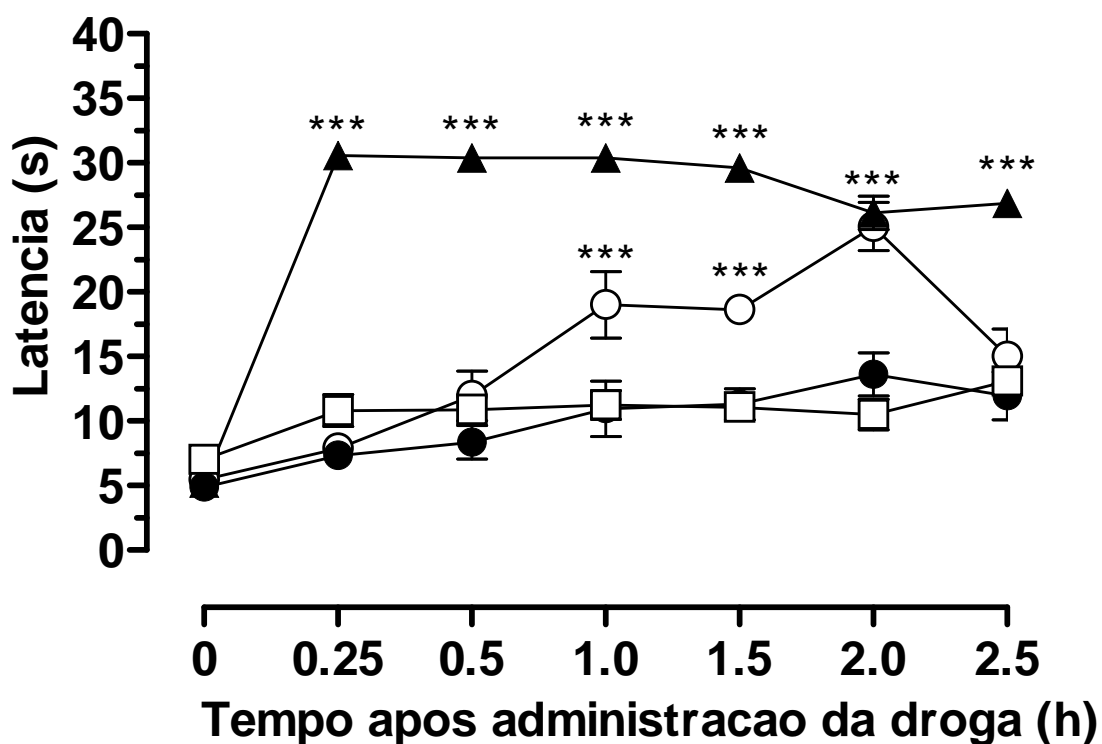




**Figura 18:** Efeito de extrato aquoso de *Physalis angulata* [●, 10 mg/kg; □, 20 mg/kg; △, 30 mg/kg, administrado intraperitonealmente (A) e oralmente (B)] ou morfina (▲, 10 mg/kg, i.p.) contra dor visceral induzida por ácido acético em ratos. Cada ponto representa Média  $\pm$  EPM de 10 animais. Os pontos marcados pelo quadrado aberto indicam o controle (animais tratados com salina, 10 ml/kg) e os asteriscos demonstram a diferença significativa quando comparado com grupos de controle, \* P < 0.05, \* \* P < 0.01, \* \* \* P < 0.001. Em alguns casos, o erro encontra-se escondido dentro dos símbolos.



**Figura 19:** Efeito de extrato aquoso de *Physalis angulata*, morfina ou indometacina administrado intraperitonealmente, contra a primeira fase (0 a 5 min, são mostrados no painel A) ou segunda fase (15 a 30 min) de nocicepção induzida por formalina em ratos. Cada coluna representa Média  $\pm$  EPM de 10 animais. A coluna (C) indica o controle (animais tratados com salina, 10 ml/kg) e os asteriscos demonstram uma diferença significativa comparado com grupos de controle, \* \* \* P < 0.001



**Figura 20:** Efeito de extrato aquoso de *Physalis angulata* (●, 30 mg/kg; ○, 60 mg/kg) ou morfina (▲, 10 mg/kg), administrados intraperitonealmente, no teste de placa-quente em ratos. Cada ponto representa Média ± EPM de 10 animais. Os pontos marcados pelo quadrado aberto indicam o grupo controle (animais tratados com salina, 10 ml/kg) e os asteriscos demonstram a diferença significativa comparado com grupo controle, \* \* \* P < 0.001. Em alguns casos, a barra de erro encontra-se escondida dentro dos símbolos.

## 5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostraram que o extrato aquoso de *Physalis angulata* (EAPa) administrado intraperitonealmente em ratos Wistar produziu ação antiinflamatória significativa, quando avaliado em processo inflamatório induzido por carragenina em modelo de bolsa de ar, confirmando o efeito anti-flogístico desta espécie (Soares *et al.*, 2003). O efeito antiinflamatório foi promovido pela inibição dos metabólitos do ácido aracdônico, metabólitos do NO e a enzima ADA. EAPa administrado intraperitonealmente ou oralmente em camundongos, também promoveu uma ação de antinociceptiva significativa em modelos de nocicepção de dor visceral induzida por ácido acético ou nocicepção induzida por formalina e estímulos térmicos no teste de placa-quente em camundongos, e promoveu inibição expressiva.

O gênero *Physalis* que pertence ao Solanaceae familiar inclui aproximadamente 120 espécies com características medicinais e hábitos perenes (Kissmann & Groth, 1995), são distribuídas ao longo das regiões tropicais e subtropicais do mundo (Kissmann & Groth, 1995, Santos, *et al.*, 2003). Extratos ou infusões desta planta são usadas em vários países na medicina popular para o tratamento para uma variedade de doenças, como malária, asma, hepatite, dermatite e reumatismo (Lin *et al.*, 1992; Chiang *et al.*, 1992 a, b; Santos *et al.*, 2003; Soares *et al.*, 2003).

Recentemente, Soares, *et al.*, 2003, mostraram que seco-esteróides como physalins B, F ou G, mas não D, isolados de *Physalis angulata* produziram uma redução na produção de NO em cultura de macrófagos peritoneais estimulados com lipopolissacarídeo (LPS) e interferon- $\gamma$ . Além disso, physalin B reduziu significativamente os níveis de TNF- $\alpha$ , interleucina-6 e interleucina-12. Physalin B, F e G foram efetivas em choque séptico induzido por LPS em ratos (Soares, *et al.*, 2003). Choi & Hwang (2003) demonstraram que o extrato metanólico de flores de *P. angulata* exibiam claramente ação antiinflamatória contra edema de pata induzido por carragenina, artrite induzida por formaldeído, como também propriedades anti-alérgicas contra reação de hipersensibilidade de contato (tipo IV) induzida por 2,4-dinitrofluorobenzene em ratos. Nossos resultados confirmam que a espécie *Physalis angulata* apresenta ação antiinflamatória e que o extrato aquoso da raiz apresenta atividade dose-dependente in vivo em baixas concentrações administrado por via intraperitoneal.

O modelo de inflamação de bolsa de ar, é muito empregado como modelo experimental para drogas com possível atividade antiflogística. Neste modelo o processo inflamatório induzido por carragenina é bem caracterizado pelo acúmulo de leucócitos, macrófagos, neutrófilos e mastócitos, e pelo aumento de permeabilidade vascular com formação de exsudato (Hambleton & Miller, 1989; Morikawa *et al.*, 2003). Neste modelo amostras de fluidos e tecidos podem ser coletados de modo simples da bolsa inflamatória (Ohuchi *et al.*, 1985; Silván *et al.*, 1997; Hambleton & Miller 1989; Tao, X., 1999), facilitando o estudo de mecanismos de ação da droga estudada. Este procedimento experimental é bastante útil para determinar o volume de exsudato, número de células, permeabilidade vascular e níveis de mediadores na cascata inflamatória induzida pelo agente flogístico e possibilitou também, demonstrar uma correlação íntima entre os mediadores inflamatórios, migração celular e exsudação.

O EAPa mostrou uma ação inibitória potente no volume de exudate e no número total de células. A permeabilidade vascular e a atividade de macrófagos estão relacionadas com a produção de NO mediada pela eNOS e iNOS, respectivamente (Olesen *et al.*, 1994; Bred & Snyder, 1994). O NO é um importante mediador no processo patofisiológico inflamatório, é o mais importante relaxante endotelial. Depois de sua formação, o NO difunde-se na musculatura lisa vascular onde ativa guanilato ciclase (Choi *et al.*, 2003; Laskin & Laskin, 2001), e dilata os vasos sanguíneos promovendo o aumento do volume de exsudato no local. É possível que o tratamento com EAPa tenha modificado a permeabilidade vascular por ativação de eNOS, diminuindo NO gerado pela carragenina.

A produção de NO pelos macrófagos é promovida pela ativação de iNOS ou óxido-redutases que convertem arginina a citrulina e NO. A liberação deste gás promove a produção de diversas citocinas e mediadores inflamatórios como interferon- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , interleucina-1, pelos macrófagos. A ligação destas citocinas e mediadores inflamatórios em receptores específicos nesta célula, iniciam uma sinalização bioquímica conduzindo a ativação de fatores de transcrição nuclear (NF-kB, IRF-1 e GAS) que se ligam a uma seqüência consenso em uma região promotora do gene NOS2 e regula a atividade pró-inflamatória do NO em macrófagos (Laskin & Laskin, 2001). Por EAPa inibir a produção de NO em macrófagos, analisando os níveis de nitrito, estes resultados, também podem estar relacionados com o bloqueio do iNOS, por conseguinte com a diminuição da ativação de macrófagos, já que como visto, a ativação de macrófagos através de processo inflamatório é regulada pela liberação de NO induzido pela iNOS e isto contribui diretamente para a inflamação (Appleton *et al.*, 1996, Laskin & Laskin, 2001) ou seja, a diminuição no volume de exsudato e



migração celular demonstrada neste estudo, após tratamento com EAPa, é devido provavelmente a inibição da produção de NO em duas de suas diferentes vias de atuação (endotelial e induzida) na inflamação.

Evidências sugerem que macrófagos têm habilidade de responder a sinais quimiotáticos; a exercer atividade fagocítica; destruir patógenos e células tumorais e depois de ativadas apresentam um papel crítico na ativação de linfócitos, devido à apresentação dos antígenos gerados às células T (Laskin & Laskin, 2001). A enzima ADA é distribuída amplamente em tecidos humanos e apresenta uma alta atividade em linfócitos (Sullivan *et al.*, 1977). O papel de atividade de ADA nas fases iniciais de diferenciação de células T foi observado em pacientes com deficiência de ADA (Shore *et al.*, 1981). O tratamento de linhagem de células linfóides com inibidores de ADA confirmou a sensibilidade de linfócitos em interferir no metabolismo de nucleosídeos de purina (Resta & Thompson, 1997), assim, sua atividade fisiológica principal foi relacionada à proliferação de linfócitos (Hovi *et al.*, 1976) e maturação de linfócitos (Shore *et al.*, 1981). Nossos dados sugerem que no grupo tratado com EAPa, a atividade de ADA encontra-se diminuída quando comparado com os valores do veículo. Estes resultados demonstram que o EAPa apresenta um efeito inibitório na proliferação de células T.

EAPa também pode ter um mecanismo de ação adicional e interessante, além de sua habilidade em inibir NO e ADA, EAPa foi muito efetivo em inibir a via da enzima ciclooxigenase. Os produtos do metabolismo do ácido aracdônico são importantes na regulação da atividade de macrófagos e na interação macrófago-linfócito (Appleton, 1996). Vale enfatizar que, ocorre atividade sinérgica entre as vias do NO e PGs, onde é observado que citocinas como interleucina-1 $\beta$  pode atuar regulando a atividade da COX-2 e iNOS em cultura de células (Salvemini *et al.*, 1993), ou mesmo o NO produzido pode atuar ativando

COX, já que este parece atuar no grupamento heme-ferro contido na COX (Salvemini *et al.*, 1993; Wu, 1995).

Neste trabalho, EAPa parece ter um papel inibitório bem evidente na síntese de prostaglandinas. Além disso, EAPa foi mais efetivo em inibir a via da PGE<sub>2</sub> que a dose habitual de indometacina usada como controle positivo. Então, é possível que EAPa atue inibindo a resposta de linfócitos, macrófagos e na produção de PGE<sub>2</sub>. Resultados em andamento do nosso grupo demonstram que o tratamento de cultura de linfócitos humanos com EAPa (1-6µg/ml) não mostrou nenhuma mudança em análise de genotoxicidade.

Com relação ao processo de nocicepção, os resultados demonstram que EAPa, administrado intraperitonealmente ou oralmente para ratos, produz ação antinociceptiva significativa contra modelos de nocicepção em ratos, através de substância química (dor visceral induzida por ácido acético ou nocicepção induzida por formalina) e processos térmico (teste de placa-quente).

Demonstramos também, que EAPa, quando administrado intraperitonealmente ou oralmente, produz atividade antinociceptiva dose-dependente significativa, de acordo com avaliação das contorções abdominais induzida por ácido acético. A solução de ácido acético, depois de administrada libera mediadores endógenos que estimulam os neurônios nociceptivos (Collier, *et al.*, 1968), que são sensíveis a drogas antiinflamatórias não esteroidal (DAINEs), a narcóticos e a outras drogas com atuação central (Collier *et al.*, 1968; Santos *et al.*, 1998; Reichert *et al.*, 2001). Recentemente, Ribeiro (2000) demonstrou que a atividade nociceptiva de ácido acético pode estar relacionado com a liberação de citocinas, como TNF- $\alpha$ , interleucina-1 $\beta$  e interleucina-8, por macrófagos peritoneais. Tais resultados sugerem fortemente que EAPa produz ação antinociceptiva por inibir a liberação de TNF- $\alpha$ , interleucina-1 $\beta$  e interleucina-8, por macrófagos peritoneais. Além disso, EAPa também pode ter um mecanismo

adicional e interessante de ação que vai além de sua habilidade por inibir citocinas pró-inflamatórias envolvidas no modelo ácido acético de dor.

Outro resultado interessante é o fato que ambos EAPa e morfina, inibiram o processo nociceptivo causado por ácido acético e formalina, e produziu também uma atividade antinociceptiva significativa no ensaio de placa-quente. Embora o teste de placa-quente seja usado geralmente para avaliar analgésicos narcóticos ou drogas de atividade central, inclusive sedativos e relaxantes musculares (Eddy & Leimback, 1953). Porém, em contraste, indometacina e outros DAINes não apresentam nenhum efeito no teste de placa-quente (Yamamoto *et al.*, 1996; Santos *et al.*, 1998). Recentemente, foi mostrado que o tratamento de ratos com o extrato metanólico de flores de *P. angulata*, não apresentou efeito no teste de placa-quente (Choi & Hwang, 2003). É possível que a diferença entre nossos resultados em relação ao ensaio de placa-quente e esses encontrados na literatura, poderiam ser devido a: a) diferenças nos procedimentos dos animais empregados; b) diferenças de princípios ativos encontrados nas partes selecionadas (raiz ou flor) da planta; c) diferenças, devido a fatores ambientais, na concentração de princípios ativos que agem na espécie *Physalis angulata*; e d) diferença de polaridade entre os solventes utilizados na produção do extrato .

A morfina, mas não indometacina, é largamente efetiva prevenindo ambas as fases, primária e secundária de dor induzida por formalina confirmando os estudos de Shibata (1989). Outros estudos mostraram que a formalina libera vários mediadores inflamatórios (Hunskar *et al.*, 1986; Hunskar & Hole, 1987; Santos & Calixto, 1997). Sendo que é bem caracterizado que a liberação de substância P e bradicinina são largamente evidentes na primeira fase da dor induzida por formalina (dor neurogênica) enquanto que, na segunda fase (dor inflamatória) ocorre a liberação excessiva de serotonina, histamina e

prostaglandina (Shibata, 1989) Porém, a indometacina (DAINE) é ineficaz contra a primeira fase da dor induzida por formalina. É bem estipulado que os DAINES (como aspirina, acetaminofen e diclofenaco), conhecidos em inibir a ciclooxigenase (COX), são largamente ineficazes ou causam inibição muito fraca contra a fase primária do teste de formalina (Hunskaar & Hole, 1987; Malmberg & Yaksh, 1992; Santos, *et al.*, 1998). Além disso, DAINES podem atenuar, de uma maneira dose-dependente, na segunda fase da dor induzida por formalina (Hunskaar & Hole, 1987; Malmberg & Yaksh, 1992; Santos *et al.*, 1998). EAPa, administrado por via intraperitoneal, só produz inibição da segunda fase (nocicepção inflamatória) do teste de formalina. Estes dados sugerem que o EAPa pode produzir ação antinociceptiva por inibir a COX, já que inibe a síntese de prostaglandina. Visto que, ocorre um aumento da atividade de PGs (principalmente PGE<sub>2</sub> e PGI<sub>2</sub>) em processos álgicos, que irão atuar sobre a produção de bradicinina e histamina estimulando as fibras C (Appleton, 1996; Millan, 1999).

Como a dor é um dos sinais cardinais da inflamação, a produção de NO é aumentado nestes processos patológicos, onde este gás pode exercer a ativação das fibras C; o aumento de [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> e/ou a ativação de receptores N-metil-d-aspartato (NMDA), promovendo assim a informação de nocicepção a região do corno dorsal (Millan, 1999). A ativação de receptores NMDA no cordão espinhal pode produzir hiperalgesia através da produção de NO e PGs (Appleton, 1996). EAPa pode estar inibindo o processo álgico através da inibição da produção de NO.

Resultados inéditos de nosso grupo também demonstram que o tratamento de ratos com EAPa, nas doses de 10, 20, 30 e 60 mg/kg não produz nenhuma mudança no comportamento, como no aparecimento de movimentos involuntários, piloereção, efeitos estimulatórios, depressão respiratória ou outros

sinais às 4, 24 ou 48 h depois de administração de EAPa. O dados indicam que EAPa apresenta uma baixa toxicidade aguda.

Em resumo, os resultados do presente estudo demonstram que EAPa apresenta ação antiinflamatória dose-dependente quando analisado no modelo de bolsa de ar. O mecanismo pelo qual EAPa produz efeitos antiinflamatórios em parte pode ser devido a inibição de proliferação de linfócitos, COX e NO, a atividade de inibição migração celular e exsudação permanecem obscuro, porém estudos farmacológicos e químicos devem continuar para caracterização do mecanismo(s) responsável para a ação antiinflamatória e também identificar princípios ativos apresentam em angulata de *Physalis*. Pela primeira verificou-se que o EAPa apresenta ação antinociceptiva dose-dependente em substância química (dor visceral induzida por ácido acético ou formalina) e estímulo térmico (teste de placa-quente) em ratos, provavelmente atuando sobre as vias de PGs e NO. Além disso, o efeito antiinflamatório mostrado no presente estudo, pelo menos em parte, corrobora com os usos etnofarmacológicos desta espécie.

- Os resultados confirmam trabalhos anteriores, mostrando uma atividade antiinflamatória da espécie *P. angulata*.
- Os efeitos antiinflamatórios observados foram em alguns pontos mais evidentes que os demonstrados pela indometacina.
- EAPa promoveu a inibição de migração celular de mecanismos ainda desconhecidos.
- EAPa promoveu uma diminuição na permeabilidade vascular conseqüentemente no volume de exsudato, provavelmente inibindo vasodilatadores do processo inflamatório, como o NO.
- EAPa atua como inibidor da via do ácido aracdônico.
- EAPa inibiu a enzima adenosina deaminase e conseqüentemente a proliferação de linfócitos induzidos por carragenina.
- EAPa apresentou atividade antinociceptiva em modelos clássicos de dor.
- EAPa demonstrou ser mais efetiva sobre a dor do tipo inflamatória que na dor do tipo neurogênica.

## BIBLIOGRAFIA

- ABBAS, A.K., LICHTMAN, A.H., POBER, J.S. Ativação dos Linfócitos T. In: **Imunologia Celular e Molecular**. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, I.S. 4<sup>o</sup> ed, Revinter, Rio de Janeiro, 2003.
- ALBERT, A.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERT, K.; WATSON, J.D. **Biologia Molecular da célula**, 3<sup>o</sup> ed., Ed. Artes Médicas, Rio de Janeiro, 1997.
- APPLETON, I.; TOMLINSOM, A. and WILLOUGHBY, D.A. Induction Cyclo-Oxygenase. **Advanced in Pharmacology**, 35:May, 1996.
- ASANUMA, M.; NISHIBAYASHI-ASANUMA, S.; MIYAZAKI, I.; KOHNO, M.; OGAWA, N. Neuroprotective effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs by scavenging of nitric oxide radicals. **Journal of Neurochemistry**. 76:1895-1904, 2001.
- ASHBY, B. Prostaglandinas e autacóides relacionados. In: **Farmacologia Humana da molecular a clínica**, Brody, Larner, Minneman, Neu; Guanabara Koogan, 2<sup>o</sup> ed., 1997.
- BALBACH, A. **A Flora Nacional na medicina Doméstica**. ed A Edificação do Lar, São Paulo, 1972.
- BONTEMPO, M. **Medicina Natural**. ed Nova Cultural, São Paulo, 1994, pp.50-65.
- BRED, D.S.; SNYDER, S.H. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. **Annu. Rev. Biochem.** 63:175-195, 1994.
- CAMPBELL, W.B. Autacóides derivados dos lipídeos: eicosanóides e fator de ativação de plaquetas. In: **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, Goodman & Gilman, Guanabara Koogan, 8<sup>o</sup> ed., 1990.
- CÁCERES, A.; MENÉNDEZ, H.; MÉNDEZ, E.; COHOBÓN, E.; SAMAYOA, B.; JÁUREGUI, E.; PERALTA, E.; AND CARRILLO, G. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. **Journal Ethnopharmacology**, 48:85-88, 1995.
- CHIANG, H.C., JAW, S.M., CHEN, C.F. Antitumor agent, physalin F from *Physalis angulata* L. **Anticancer Research** 12, 837-843, 1992(a).

- CHIANG, H.C., JAW, S.M., CHEN, C.F., KAN, W.S. Inhibitory effects of physalin B and physalin F on various human leukemia cells in vitro. **Anticancer Research** 12, 1155-1162, 1992(b).
- CHOI, E.M., HWANG, J.K. Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. *Journal of Ethnopharmacology* 89, 171-175, 2003.
- COLLIER, H.O., KINNEEN, L.C., JOHNSON, C.A., SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology** 32, 295-310, 1968.
- COLLINS, T. Inflamação aguda e crônica. **In: Patologia Estrutural e Funcional**, Robbins, Contram, Kumar & Collins, 44 – 76, 6º ed., Guanabara Koogan, 2000.
- CORRÊA, M.P. **Flora do Brasil – Algumas plantas úteis, suas aplicações e distribuição geographica**. ed, Directoria geral de Estatística, Rio de Janeiro, 31-32, 1909
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, Brasil, vol 1, 1962.
- COLVILLE-NASH, P.R.; GILROY, D.W. Cox-2 and the cyclopentenone prostaglandins a new chapter in the book of inflammation? **Prostaglandin and other Lipid Mediators**. 62: 33-43, 2000.
- DALE, M.M. Drogas usadas em supressão de reações inflamatórias e imunológicas. **In: Farmacologia**, Range & Dale, 175 – 189, Guanabara Koogan, 1993.
- DEWEY, W.L.; BRASE, D.; WELCH, S.P. Controle da dor com analgésicos opióides. **In: Farmacologia Humana da Molecular à Clínica**, Brody, Larner, Minneman, Neu; pp. 329-343, 2º ed., Guanabara Koogan, 1991.



- DI ROSA, M., GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Pathology**. 104, 1: 15 – 29, 1971.
- DIRIG, D.M.; SALAMI, A.; RATHBUN, M.L.; OKAZI, G.T.; YAKSH, T.L. Characterization of variables defining hindpaw withdrawal latency evoked by radiant thermal stimuli. **Journal of Neuroscience Methods**, 76: 183-191, 1997.
- DRAY, A.; PERKINS, M. Bradykinin and inflammatory pain, **Trends in Neuroscience**, 16,3: 99-104,1993.
- EDDY, N.B., LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. Dithienylbutenyl- and dithienylbutylamines. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 107, 385-393,1953.
- ELEGAMI,A.A.; ALMAGBOUL, A.Z.; OMER, M.E.A.; EL TOHAMI, M.S. Sudanese plants used in folkloric medicine: screening for antibacterial activity, Part X. **Fitoterapia**. 72: 810-817, 2001.
- FOX, I.H. & KELLEY, W.N. The role of adenosine deaminase and 2' – deoxyadenosine in mammalian cells. **Ann. Rev. Biochem.** 17: 655 – 686, 1978.
- FREIBURGHAUS, F.; KAMINSKY, R.; NKUNYA,M.H.H.; AND BRUN,R. Evaluation of African medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity. **Journal of Ethnopharmacology** 55:1-11,1996.
- FRETLAND, D.J. Potential role of prostaglandins and leukotrienes in multiple sclerosis and experimental allergic encephalomyelitis. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, 45:249-257,1992.
- FRÖLICH, J.C. A classification of NSAIDs according to relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes. **TIPS** 18: 30-34, 1997.
- GALVÃO, G. **Nós e as Plantas**, ed. Iracema, São Paulo, pp 33-37, 1966.

- GIBLETT, E.R.; ANDERSON, J.E.; COHEN, F.; POLLARA, B.; MEUWISSEN, H.J. Adenosine deaminase deficiency in two patients with severe impaired cellular immunity. **Lancett**, ii, 1067, 1972.
- GIULIANO, F.; FERRAZ, J.G.P.; PEREIRA, R.; NUCCI, G.; WARNER, T.D. cyclooxygenase selectivity of non-steroid anti-inflammatory drugs in humans: ex vivo evaluation. **European Journal of Pharmacology**, 426: 95-103, 2001.
- GOFF, J.R.; BURKEY, A.R.; GOFF, D.J.; JASMIN, L. Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behaviour. **Neuroscience**, 82: 559-574, 1998.
- GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacologicas da terapêutica**, 8º ed. Guanabara Koogan, 1990.
- GOODWIN, D.C.; LANDINO, L.M.; MARNETT, L.J. Effects of nitric oxide and nitric oxide – derived species on prostaglandin endoperoxide synthase and prostaglandin biosynthesis. **The FASEB Journal**. 13: 1121 – 1136, 1999.
- GORDINHO, M.C., **Caminhos da medicina, trilhas do mundo**. ed. Marca D'Água, São Paulo, pp 36-80, 1999.
- HAMBLETON, P. & MILLER, P. Studies on carragenin air pouch inflammation in the rat. **British Journal of Experimental Pathology**, 70: 425-433, 1989.
- HAMBLETON, P. & WILLIAMS, C.A. Studies on carragenin air pouch inflammation in the rat. **British Journal Exp. Pathology**, 55:481-504, 2000.
- HARRIS, S.G.; PADILLA, J.; KOUMAS, L.; RAY, D; and PHIPPS, R.P. Prostaglandins as modulators of immunity. **TRENDS in immunology**. 23:3,144-149; 2002.
- HOVI, T.; SMYTH, J.F.; ALLISON, A.C.; WILLIAMS, S.C.; Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation. **Clinical Experimental Immunology** 23: 395–403, 1976.
- HUCI-YANN, T.; YUH-TZY, L.; CHANG-HAI, T.; YUH-FUNG, C. Effects of paeoniflorin on the formalin-induced nociceptive behaviour in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. 76, 267-271, 2001.
- HUNSKAAR, S., BERGE, O.G., HOLE, K. Dissociation between antinociceptive and anti-inflammatory effects of acetylsalicylic acid and indomethacin in the formalin test. **Pain** 25, 125-132, 1986.

- HUNSKAAR, S., HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, 30: 103-114,1987.
- INSEL, A.P. Substâncias analgésicas – antipiréticas e antiinflamatórias; drogas empregadas no tratamento de artrite reumatóide e da gota. **In: Bases Farmacológicas da Terapêutica**, Goodman & Gilman, 8º ed. Guanabara Koogan, 1991.
- ISMAIL,N.; ALAM,M. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulata*. **Fitoterapia** 72: 676-679,2001.
- JESSELL, T.M.; KELLY, D.D. Pain and Analgesia. **In: Principles of Neuroscience**. Kandel, Schwartz, Jessell, 3ª ed, elsevier, 1991.
- JUANG, J.K.; HUANG, H.W.; CHEN, C.M.; LIU, H.J. A new compound, withangulatin A, promotes type II DNA topoisomerase mediated DNA damage. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 159:3, March 31,1989.
- KENNETH, K.W. Inducible ciclooxigenase and nitric oxide synthase. **Advanced in Pharmacology** 33:179-207,1995.
- KISSMANN, K.G., GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**, Tomo III, BASFSA, p. 485-487, 1995.
- KURIHARA, T.; NONAKA, T.; TANABE, T. Acetic acid conditioning stimulus induces long-lasting antinociception of somatic inflammatory pain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 74: 841-849, 2003.
- LASKIN, D.L. & LASKIN, J.D. Role of macrophages and inflammatory mediators in chemically induced toxicity. **Toxicology** 160: 111-118,2001.
- LENT, R. Os sentidos do corpo. **In: Cem Bilhões de Neurônios conceitos fundamentais de neurociência**. Ed Atheneu, 1ªed, São Paulo,2001
- LIN, Y.S.; CHIANG, H.C.; KAN, W.S.; HONE, E.; SHIH, S.J. AND WON, M.H. Immunomodulatory Activity of various Fractions Derived from *Physalis angulata* L extract. **The American Journal of Chinese Medicine**, XX: 3-4: 233-243. 1992.
- LORENZI,H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestre, aquáticas, parasitas e medicinais**. Nova Odessa, SP, pp. 372, 1982.
- MALE. Migração celular e inflamação. **In: Imunologia**, Roitt, Brostoff e Male, 5º ed., Ed.: Manole, 1999.

- MALMBERG, A.B., YAKSH, T.L. Antinociceptive actions of spinal nonsteroidal anti-inflammatory agents on the formalin test in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 263, 136-146, 1992.
- MARLETTA, M.A. Nitric Oxide: biosynthesis and biological significance **TIBS**, 14: 488-492, December, 1989.
- MARTINS, J.E.C. **Plantas Medicinais de uso na Amazônia**. Cejup, 2<sup>a</sup> ed, pp. 31-32, 1989.
- MILLAN, M.J. The induction of pain: An integrative review. **Progress in Neurobiology**, 57: 1-164, 1999.
- MITCHELL, J.A.; AKARASEREENONT, P.; THIEMERMANN, C.; FLOWER, R.J.; VANE, J.R. Selectivity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. **PNAS**, 90:11693-11697, 1994.
- MONCADA, S. The L-arginine: Nitric oxide pathway, cellular transduction and immunological roles. **Advances in Second messenger and Phosphoprotein Research** 28: 97-99, 1993.
- MORIKAWA, K.; NONATA, M.; IKUKO TORII; MORIKAWA, S. Modulatory effect of fosfomycin on acute inflammation in the rat air pouch model. **International Journal of Antimicrobial Agents** 21:334-339, 2003.
- MORTEZA-SEMNANI, K.; SAEEDI, M.; HAMIDIAN, M.; VAFAMEHR, H.; DEHPOUR, A.R.; Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Glaucium grandiflorum* extract. **Journal of Ethnopharmacology**. 00: 1-6, 2002.
- MURPHY, J.; BACKER, D.C.; BEHLING, C.; TURNER, A.. Critical reexamination of the continuous spectrophotometric assay for adenosine deaminase. **Analytical Biochemistry**, 122: 328 – 337, 1982.
- NAKATANI, K.; NAKAHATA, N.; ARAKAWA, T.; YASUDA, H.; OHIZUMI, Y. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by  $\gamma$ -mangostin, a

- xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. **Biochemical Pharmacology**, 63:73-79,2002.
- NARITA, M; SUZUKI, M; IMAI, S; NARITA, M; OZAKI, S; KISHIMOTO, Y; OE, K; YAJIMA, Y; YAMAZAKI, M; SUZUKI, T. Molecular mechanism of changes in the morphine-induced pharmacological actions under chronic pain-like state: Suppression of dopaminergic transmission in the brain. **Life Sciences**, 74: 2655-2673, 2004.
- NINNEMANN, J.L. Prostaglandins, Leukotrienes, and the immune response. New York: Cambridge University Press pp. 1-52, 1988.
- OLESEN, J., THOMSEN, L.L. AND IVERSEN, H. Nitric Oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. **TIPS** 15:149-153, 1994.
- PÉREZ-GUERRERO, C.; HERRERA, M.D.; ORTIZ, R., ALVAREZ DE SOTOMAYOR, M.; FERNÁNDEZ, M.A. A pharmacological study of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**. 76:279-284, 2001.
- OHUCHI, K.; HIRASAWA, N.; WATANABE, M.; TSURUFUJI, S. Pharmacological analysis of the vascular permeability response in the anaphylactic phase of allergic inflammation in rats. **European Journal of Pharmacology**. 117:337-345,1985.
- RAINVILLE, P. Brain mechanisms of pain affect and pain modulation. **Current Opinion in Neurobiology**, 12:195-204, 2002.
- RAMACHANDRA ROW, L.; SUBRAHMANYA SARMA; TERUO MATSUURA; AND RUKA NAKASHIMA. Physalins E and H, new physalins from *Physalis angulata* and *P. lancifolia*. **Phytochemistry**, 17: 1641-1645, 1978.
- RAMACHANDRA ROW, L.; SUBRAHMANYA SARMA; TERUO MATSUURA; AND RUKA NAKASHIMA. New physalins from *Physalis angulata* and *Physalis lancifolia*, structure and reactions of physalins D, I, G and K. **Phytochemistry**, 19: 1175-1181, 1980.
- RESTA, R AND THOMPSON, L.F. SCID: the role of adenosine deaminase deficiency. **TRENDS Immunology Today**, 18:8, 363-409, 1997.
- RIBEIRO, R.A., VALE, M.L., THOMAZZI, S.M., PASCHOALATO, A.B.P., POOLE, S., FERREIRA, S.H., CUNHA, F.Q. Involvement of resident macrophages and

- mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **European Journal of Pharmacology** 387, 111-118, 2000.
- REICHERT, J.A., DAUGHTERS, R.S., RIVARD, R., SIMONE, D.A. Peripheral and pre-emptive opioid antinociception in a mouse visceral pain model. **Pain** 89, 221-227, 2001.
- ROBBINS. **Patologia estrutural e funcional**. 6º ed., Guanabara Koogan, 2000.
- ROBBINS, R.A.; GRISHAM, M.B. Nitric Oxide. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.** 29:6,857-860, 1997.
- RODRIGUES, R.M. **A Flora da Amazônia**. Belém, Pará. Ed Cejup, 1989, pp.54.
- RODRIGUES, L.E.A.; DA CRUZ FILHO, A.A.S.; E SILVA, J.P.; AVILA, M.O.N.; DE ARAÚJO, F.L.V. Simple method for the assay of adenosine deaminase (ADA) activity used for the rapid diagnosis of tuberculosis. **Archive Biology Technology**. 37:2,385–389, Jun., 1994.
- SALVEMINI, D.; MISKO, T. P.; MASFERRER, J. L.; SEIBERT, K.; CURRIE, M. G.; NEEDLEMAN, P. Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. **PNAS**, 90: 7240-7244, 1993.
- SANTOS, J.A.A., TOMMASSINI, T.C.B., XAVIER, D.C.D., RIBEIRO, I.M., SILVA, M.T.G., MORAIS FILHO, Z.B. Molluscicidal activity of *Physalis angulata* L. extracts and fractions on *Biomphalaria tenagophila* (d'Orbigny, 1835) under laboratory conditions. **Memoria Instituto Oswaldo Cruz** 98: 425-428, 2003.
- SANTOS, A.R.S., VEDANA, E.M.A., FREITAS, G.A.G. Antinociceptive effect of meloxicam, in neurogenic and inflammatory nociceptive models in mice. **Inflammation Research**, 47: 302-307, 1998.
- SANTOS, A.R.S., CALIXTO, J.B. Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. **Neuropeptides** 31, 381-389, 1997.

- SAUTEBIN, L. Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy. **Fitoterapia** 71: 48-57,2000.
- SHIBATA, M.; OHKUBO, T.; TAKAHASHI, H.; INOKI, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. **Pain**, 38: 347-352, 1989.
- SHINGU, K.; YAHARA, S.; OKABE, H.; AND NOHARA, T. Three new withanolides, physagulins E, F and G from *Physalis angulata* L. **Chemistry Pharmaceutical Bulletin** 40: 9,2448-2451, 1992.
- SILVÁN, A.M.; ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; VILLAR, A.M. Adjuvant carrageenan-induced inflammation in mice. **Gen. Pharmac.** 29,4: 665-669,1997.
- SMITH, W.L.; GARAVITO, R.M., DEWITT, D.L. Prostaglandin Endoperoxide H Synthase (Cyclooxygenases)-1 and 2 **The Journal of Biological Chemistry**. 271, 52:33157-33160,1996.
- SOARES, M.B.P., BELLINTANI, M.C., RIBEIRO, I.M., TOMASSINI, T.C.B., SANTOS, R.R. Inhibition of macrophage activation and lipopolysaccharide-induced death by seco-steroids purified from *Physalis angulata* L. **European Journal of Pharmacology** 459, 107-112, 2003.
- SHORE, A.; DOSCK, H.M.; GELFAND, W. Role of adenosine deaminase in the early stages of precursor T cell maturation. **Clinical Experimental Immunology** 44:152-155, 1981.
- STITES, D.P.; TERR, A.I. **Imunologia Básica**. Ed.: Prentice – Hall do Brasil, 1992.
- SULLIVAN, J.L.; OSBORNE, W.R.; WEDGWOOD, R.J. Adenosine deaminase activity in lymphocytes. **Brazilian Journal of Hematology**. 122: 216 - 220, 1997.
- TAO, X; MA, L; LIPSKY, P.E. Suppression of carrageenan – induced inflammation in vivo by extract of Chinese herbal remedy *Tripterygium wilfordii* Hook F. **Inflammation research** 48: 139-148,1999.
- TJOLSEN, A.; ODD-GEIR, B.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J.H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain** 51: 5-17, 1992.

- TORRES, S.R.; FRÖDE, T.S.; NARDI, G.M.; VITA, N.; REEB, R.; FERRARA, P.; RIBEIRO-DO-VALE, R.M.; FARGES, R.C. Anti-inflammatory effects of peripheral benzodiazepine receptor ligands in two mouse models of inflammation. **European Journal of Pharmacology**, 408: 199-211, 2000.
- TRAUB, R.J. The spinal contribution of the induction of central sensitization. **Brain Research**, 778: 34-42, 1997.
- VANDERAH, T.W.; OSSIPOV, M.H.; LAI, J.; MALAN, T.; PORRECA, F. Mechanisms of opioid-induced pain and antinociceptive tolerance: descending facilitation and spinal dynorphin. **Pain**, 92,1-2: 5-9, 2001.
- VANE, J.R.; BOTTING, R.M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal of Medicine** 140: 2-8,1998.
- WARA, D.W.; AMMANN, A.J. Laboratory data. Combined immunodeficiency disease and adenosine deaminase deficiency. **A molecular defect**. ed.: by H.j. Meuwissen, R.J. Pickering, B. Pollara; I. H.Porter, pp. 247, Academic Press., New York, 1975.
- WILLIAMS, T.J.; PECK, M.J. Role of prostaglandin-mediated vasodilatation in inflammation. **Nature** 270:530-532,1977.
- WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Antiinflammatory and antipyretic activities of indomethacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methyl-indole-3-acetic acid. **Journal of Pharmacology** 141: 369, 1963.
- WINTER, C.A.; RISLEY, E.A.; NUSS, G.W. Carragenin – induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the society of experimental biology and medicine**, 111: 544 – 547, 1962.
- WINKELSTEIN, B.A. Mechanisms of central sensitization, Neuroimmunology & injury biomechanics in persistent pain: implications for musculoskeletal disorders. **Journal of Electromyography and Kinesiology**, 14: 87-93, 2004.
- WILLOUGHBY, D.A.; MOORE, A.R.; COLVILLE-NASH, P.R.; GILROY, D. Resolution of inflammation. **International Journal of Immunopharmacology**, 22: 1131-1135, 2000.
- WU, K. K. Inducible cyclooxygenase and nitric oxide synthase. **Advance in Pharmacology**, 33: 179-207, 1995.



YAMAMOTO T, NOZAKI-TAGUCHI N Analysis of the effects of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 in spinal nociceptive transmission using indomethacin, a non-selective COX inhibitor, and NS-398, a COX-2 selective inhibitor. **Brain Research** 739, 104-110, 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](#)