

**SEVEN**

PUBLICAÇÕES ACADÊMICAS  
2022

***Luehea divaricata Martius & Zucchini***

ESTUDO FARMACOLÓGICO DA SUA ATIVIDADE  
ANTINOCICEPTIVA EM MODELO DE NOCICEPÇÃO  
QUÍMICA E TÉRMICA

HÉBELYS IBIAPINA DA TRINDADE

**SEVEN**

PUBLICAÇÕES ACADÊMICAS  
2022

***Luehea divaricata Martius & Zucchini***

ESTUDO FARMACOLÓGICO DA SUA ATIVIDADE  
ANTINOCICEPTIVA EM MODELO DE NOCICEPÇÃO  
QUÍMICA E TÉRMICA

HÉBELYS IBIAPINA DA TRINDADE

**EDITORA CHEFE**

Profª Msc. Isabele de Souza Carvalho

**EDITOR EXECUTIVO**

Nathan Albano Valente

**ORGANIZADOR**

Hébelys I. Trindadea

**PRODUÇÃO EDITORIAL**

Seven Publicações Ltda

**ARTE E EDIÇÃO**

Alan Ferreira de Moraes

**COVER IMAGES**

AdobeStok

**BIBLIOTECÁRIA**

Eliete Marques da Silva

**ÁREA DO CONHECIMENTO**

Ciências da natureza

2022 by Seven Editora

Copyright © Seven Editora

Copyright do Texto © 2022 Os Autores

Copyright da Edição © 2022 Seven Editora

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva da autora, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Seven Publicações Ltda. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos a autora, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Seven Publicações Ltda é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação.

Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.



O conteúdo deste Livro foi enviado pela autora para publicação de acesso aberto, sob os termos e condições da Licença de Atribuição Creative Commons 4.0 Internacional

## **CORPO EDITORIAL**

### **EDITORES CHEFE**

Profª Msc. Isabele de Souza Carvalho

### **CONSELHO EDITORIAL**

Prof. Dr. Pedro Henrique Ferreira Marçal. Universidade Vale do Rio Doce

Prof. Msc. Adriana Barni Truccolo- Universidade Estadual do Rio Grande do Sul

Prof. Msc. Marcos Garcia Costa Morais- Universidade Estadual da Paraíba

Prof. Dra. Mônica Maria de Almeida Brainer - Instituto Federal Goiano Campus Ceres

Prof. Me. Caio Vinicius Efigenio Formiga - Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Prof. Me. Egas José Armando - Universidade Eduardo Mondlane de Moçambique.

Profª Drª. Ariane Fernandes da Conceição- Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Prof. Dr. Wanderson Santos de Farias - Universidad de Desarrollo Sustentable

Profª Drª. Maria Gorete Valus -Universidade de Campinas

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
(Câmara Brasileira do Livro, SP, Brasil)**

Trindade, Hébelys Ibiapina da

Luehea divaricata Martius & Zucchini [livro eletrônico] : estudo farmacológico da sua atividade antinociceptiva em modelo de nocicepção química e térmica / Hébelys Ibiapina da Trindade ; organização Seven Editora. -- Curitiba, PR : Seven Events, 2022.  
PDF

Bibliografia.

ISBN 978-65-84976-11-5

1. Farmacologia 2. Farmacologia veterinária  
3. Luehea divaricata 4. Medicamentos - Toxicologia  
5. Produtos naturais (Farmacologia e química)  
I. Seven Editora. II. Título.

22-128987

CDD-615.1

**Índices para catálogo sistemático:**

1. Farmacologia 615.1

Eliete Marques da Silva - Bibliotecária - CRB-8/9380

  [10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-000](https://doi.org/10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-000)

Seven Publicações Ltda  
CNPJ: 43.789.355/0001-14  
editora@sevenevents.com.br  
São José dos Pinhais/PR

## DECLARAÇÃO DO (A) AUTOR(A)

A autora desta obra **DECLARA** para os seguintes fins que:

1. Não possui qualquer interesse comercial que enseje um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado;
2. Declara que participou ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente nas seguintes condições: "a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão;"
3. Certifica que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos e vícios de autoria;
4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas;
5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa;
6. Autoriza a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Seven Publicações Ltda.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Seven Publicações Ltda **DECLARA**, para fins de direitos deveres e eventuais aceções metodológicas ou jurídicas, que:

1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, constituindo direito sobre a publicação e reprodução dos materiais. Não se responsabilizando solidariamente na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; Sendo única e exclusivamente responsabilidade do (s) autor (es) a verificação de tais questões autorais e outras, se eximindo portando a Editora de eventuais danos civis, administrativos e penais que surjam.
2. Autoriza A DIVULGAÇÃO DA OBRA, pelo (s) autor (es) em palestras, cursos eventos, shows, meios midiáticos e televisivos, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial, com a apresentação dos devidos CRÉDITOS a SEVEN PUBLICAÇÕES LTDA, podendo ser responsabilizado o autor (es) e divulgadores pela omissão/apagamento de tais informações;
3. Todos os e-book são open access, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de e-commerce, ou qualquer outro meio virtual ou físico. Sendo, portanto, isenta de repasses de direitos autorais aos autores, vez que o formato não enseja demais direitos que não os fins didáticos e publicitários da obra que podem ser consultados a todo momento.
4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro;
5. A Seven Publicações Ltda, não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra, em conformidade ao Marco Civil da Internet, a Lei Geral de Proteção de Dados e a Constituição da República Federativa.

# APRESENTAÇÃO

## LISTA DE ABREVIATURAS

- µl** – microlitro  
**µm** – micrograma  
**α** – alfa  
**β** - beta  
**δ** – delta  
**κ** – kappa  
**ACh** – acetilcolina  
**AcOET** – acetato do extrato etanólico  
**AMPA** – alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol –propilônico  
**ANOVA** – análise de variância  
**AINEs** – anti-inflamatório não esteroideais  
**AMPc** – monofosfato cíclico de adenosina  
**ASIC** – canais iônicos sensíveis a ácidos  
**BDNF** – fator neutrófico derivado do cérebro  
**BRVMR** – bulbo raquidiano ventromedial rostral  
**CCA** – Centro de Ciências Agrárias  
**CGRP** – peptídeo relacionado ao gene calcitonina  
**COX-1** – cicloxigenase-1  
**COX-2** – cicloxigenase-2  
**D1** – receptor de dopamina 1  
**D2** – receptor de dopamina 2  
**D3** – receptor de dopamina 3  
**D4** – receptor de dopamina 4  
**D5** – receptor de dopamina 5  
**EA** – extrato aquoso  
**EDCM** – extrato diclorometânica  
**EM** – extrato metanólico  
**EP** – receptor de prostanóide  
**EPP** – Insight Equipamentos Ltda  
**EtOH** – extrato etanólico  
**EtOH-Ld** – extrato etanólico da casca Luehea divaricata  
**g** - grama  
**GABA** – ácido gamaminobutírico  
**GMPC** – monofosfato de guanosina cíclica  
**GPCR** – receptor acoplados à proteína G  
**GRD** – glânglio da raiz dorsal  
**5-HT** – serotonina (5-hidroxitriptamina)  
**5-HIAA** – 5-hidroxiindolacético  
**IASP** – Associação Internacional para o Estudo da dor  
**IP3** – inositol trifosfato  
**i.p.** – via intraperitoneal  
**K +** – potássio  
**kg** – quilograma  
**km** - quilometro  
**LC** – locus coeruleus  
**L. divaricata** – Luehea divaricata  
**MeOH** – solução hidrometanólica  
**m** – metro  
**mg** – miligrama  
**mL** – mililitro  
**Na +** – sódio  
**Nav** – voltagens de canais de sódio  
**NGF** – fator de crescimento nervoso  
**NMDA** – n-metil-d-aspartato  
**NO** – óxido nítrico  
**NRM** – núcleo magno da rafe  
**NT** – neutrofina  
**OECD** – Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos  
**OMS** – Organização Mundial de Saúde  
**pCPA** – p-Clorofenilalanina  
**PPGCA** – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal  
**PGs** – prostaglandinas  
**PK** – proteínas cinases  
**PRC** – proteína quinase C  
**SCPV** – substância cinzenta periaquedutal  
**seg** - segundo  
**SNC** – Sistema Nervoso Central  
**SNP** – Sistema Nervoso Periférico  
**Substância P** – neurotransmissor neuropeptídeo composto por uma cadeia de 11 resíduos de aminoácidos que atua como neuromodulador  
**Tc** – média do grupo controle  
**TEPB** – Teresina Piauí Brasil  
**TGO/AST** – transaminase glutâmica oxalacética/aspartato aminotransferase  
**TGP/ALT** – transaminase glutâmica pirúvica/alalanina aminotransferase  
**TNFα** – fator de necrose tumoral  
**TRP** – receptores de caráter transitórios  
**Tt** – média do tempo  
**TXs** - tetrodotoxina  
**UFPI** – Universidade Federal do Piauí  
**VIP** – peptídeo intestinal vasoativo  
**v.o.** – via oral  
**VRL** – receptor tipo vanilóide  
**v/v** – volume por volume  
**WDR** – neurônios de variação de dinâmica ampla

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES (Figuras, Quadros e Tabelas)

## FIGURAS

### CAPÍTULO I

<b>Figura 1:</b> Espécie <i>Luehea divaricata</i> Martius & Zucchini e detalhe da sua flor (à direita)	20
--	----

### CAPÍTULO 2

<b>Figura 1:</b> Estrutura dos constituintes químicos isolados de <i>L. divaricata</i>	20
--	----

### CAPÍTULO 3

<b>Figura 1:</b> Média do ganho de peso de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> e observados durante 14 dias. ( $\alpha=p<0,05$ vs controle; $b=p<0,05$ vs 300mg/kg)	43
---	----

<b>Figura 2:</b> Média do consumo de alimento de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> e observados durante 14 dias	43
---	----

<b>Figura 3:</b> Média da ingestão de água de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> e observados durante 14 dias.	43
---	----

<b>Figura 4:</b> Média do ganho de peso de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> durante 30 dias. ( $\alpha=p<0,05$ vs controle; $b=p<0,05$ vs 250mg/kg; $c=p<0,05$ vs 500mg/kg)	44
--	----

<b>Figura 5:</b> Média do consumo de alimento de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> durante 30 dias ( $\alpha=p<0,05$ vs controle; $b=p<0,05$ vs 250mg/kg; $c= p<0,05$ vs 500mg/kg)	44
--	----

<b>Figura 6:</b> Média da ingestão de água de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> durante 30 dias ( $\alpha=p<0,05$ vs controle; $b=p<0,05$ vs 250mg/kg; $c= p<0,05$ vs 500mg/kg)	45
---	----

### CAPÍTULO 4

<b>Figura 1:</b> Efeito antinociceptivo das frações acetato e aquosa obtida a partir do extrato etanólico das cascas de <i>Luehea divaricata</i> (EtOH-Ld), no teste de formalina. (Painel 1: 1ª fase do teste de formalina. Painel 2: 2ª fase do teste de formalina)	55
---	----

### CAPÍTULO 5

<b>Figura 1:</b> Influência do pré-tratamento de camundongos com PCPA (100 mg/kg, i.p., por 4 dias consecutivos, painel 1 e 2), cetanserina (1 mg/kg, i.p., painel 2 e 3) e ondansetrona (0,5 mg/kg, i.p., painel 2 e 3) sobre o efeito antinociceptivo da fração aquosa do extrato etanólico das cascas de <i>L. divaricata</i> (200 mg/Kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção	
---	--

intraplantar de formalina. (Painel 1 e 3: 1º fase do teste da formalina. Painel 2 e 4: 2º fase do teste da formalina)

.....64

**Figura 2:** Influência do pré-tratamento de camundongos com Atropina (1,0 mg/Kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* (200 mg/Kg), Acetilcolina (1,0 mg/kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina. (Painel 1: 1º fase do teste da formalina. Painel 2: 2º fase do teste da formalina)

.....65

**Figura 3:** Influência do pré-tratamento de camundongos com Haloperidol (0,2 mg/Kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata* (200 mg/Kg), Apomorfina (1,0 mg/kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina. (Painel 1: 1º fase do teste da formalina. Painel 2: 2º fase do teste da formalina)

.....65

## QUADROS

### CAPÍTULO 2

**Quadro 1:** Potencial farmacológico da espécie *L. divaricata*.

.....33

**Quadro 2:** Constituintes químicos isolados na espécie *L. divaricata*

.....34

## TABELAS

### CAPÍTULO 2

**Tabela 1:** Resultados da abordagem fitoquímica do extrato etanólico e frações da casca de *Luehea divaricata*

.....36-37

### CAPÍTULO 3

**Tabela 1:** Massa corporal e dos órgãos de ratos tratados com o extrato etanólico das b cascas de *L. divaricata* durante 30 dias

.....45

**Tabela 2:** Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos tratados com o extrato betanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias

.....45

### CAPÍTULO 4

**Tabela 1:** Tempo de latência apresentados por camundongos tratados com frações acetato e aquosa obtida a partir do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata*, em distintos esquemas posológicos no teste "hot plate"

.....56

# SUMÁRIO

## CAPÍTULO 1

**Trindade, H. I. Luehea divaricata Martius & Zucchini: estudo farmacológico da sua atividade antinociceptiva em modelo de nocicepção química e térmica**

*Hébelys I. Trindadea*

  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-001

.....1-31

## CAPÍTULO 2

**Abordagem fitoquímica do extrato EtOH, frações AcOEt e aquosa das cascas dos caules de Luehea divaricata Mart. & Zucc. (MALVACEAE).**

*Hébelys I. Trindadea*

  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-002

.....32-39

## CAPÍTULO 3

**Avaliação da toxicidade aguda e subcrônica do extrato etanólico de Luehea divaricata**

*Hébelys I. Trindadea*

  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-003

.....40-49

## CAPÍTULO 4

**Avaliação da atividade antinociceptiva das frações acetato e aquosa do extrato etanólico de Luehea divaricata Mart. & Zucc**

*Hébelys I. Trindadea*

  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-004

.....50-60

## CAPÍTULO 5

**Avaliação da participação dos sistemas serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico na possível atividade antinociceptiva da fração aquosa do extrato etanólico de Luehea divaricata em camundongos**

*Hébelys I. Trindadea*

  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-005

.....61-71



## Trindade, H. I. *Luehea divaricata* Martius & Zucchini: estudo farmacológico da sua atividade antinociceptiva em modelo de nocicepção química e térmica

 [10.56238/sevendiefatiamodelodenoqt-001](https://doi.org/10.56238/sevendiefatiamodelodenoqt-001)

### Hébelys I. Trindadea

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Campus Agrícola da Socopo s/nº CEP: 64049-550, Teresina – PI, Brasil.

E-mail: hebelys@yahoo.com.br

### RESUMO

A *Luehea divaricata* é uma planta usada na medicina popular brasileira com finalidades diversas, sobretudo anti-inflamatória, antianêmica e diurética. Considerando-se os seus usos etnofarmacológicos, realizou-se este estudo com o objetivo de conhecer os constituintes químicos e a toxicidade aguda e subcrônica do extrato etanólico formulado a partir das cascas do caule de *L. divariacata* (EtOH-Ld), bem como a atividade antinociceptiva das frações acetato (AcOEt) e aquosa do EtOH-Ld, de modo a possibilitar informações sobre os seus possíveis mecanismos de ação. O estudo fitoquímico evidenciou, nas frações AcOEt e aquosa, a presença de taninos, antocianidinas, antocianinas, fenóis, leucoantocianidinas, saponinas, triterpenos e alcaloides. Na verificação da toxicidade aguda, dois grupos de camundongos, cada um com seis animais, foram tratados com EtOH-Ld, nas dosagens de 300 e 2000 mg/kg, respectivamente. E na toxicidade subcrônica, quatro grupos com seis ratos cada um, foram tratados com o veículo e com o EtOH-Ld nas dosagens de 100, 500 e 1000 mg/kg. Para avaliar a atividade antinociceptiva das frações AcOEt e aquosa realizaram-se os seguintes testes: formalina e placa quente, utilizando camundongos Swiss machos, divididos em seis grupos de seis animais, que foram tratados com ambas as frações, nas dosagens de 100 e 200 mg/Kg, por via oral. Para verificar a participação dos sistemas serotoninérgico, colinérgico muscarínico e dopaminérgico, o que permite inferência sobre o mecanismo de ação, utilizou-se o teste de formalina. Os resultados foram submetidos a análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Em relação à toxicidade aguda, os animais não expressaram alterações comportamentais em nenhum grupo e, na avaliação da toxicidade subcrônica, não foram vistas alterações dignas de nota no fígado, baço e rins, bem como, não foram evidenciadas diferenças entre os grupos tratados e não tratados no perfil

bioquímico ( $p < 0,05$ ). O EtOH-Ld, nas diferentes doses estudadas, apresentou atividade antinociceptiva nas frações acetato e aquosa, sendo mais significativa ( $p > 0,05$ ) a fração aquosa na dosagem 200 mg/kg, nos testes de formalina e placa quente. A fração aquosa (200 mg/kg) do EtOH-Ld, mostrou melhor resposta pela via colinérgica muscarínica. Assim, pode-se concluir que o EtOH-Ld não apresenta manifestações clínicas de toxicidade aguda e crônica, sendo que a fração aquosa, na dosagem de 200 mg/kg, proporciona melhor efeito antinociceptivo.

**Palavras-chave:** açoita-cavalo, analgesia, dor, nocicepção, placa quente, formalina, toxicidade, fármacos analgésicos.

### ABSTRACT

The *Luehea divaricata* is a plant used in Brazilian folk medicine for various purposes, sobretudo anti-inflammatory, diuretic and antianemic. Considering their ethnopharmacological uses, took place this study in order to know the chemical constituents and acute toxicity and subchronic the ethanol extract made from the stem bark of *L. divariacata* (EtOH-Ld) and the antinociceptive activity of fractions acetate (EtOAc) and the aqueous EtOH-Ld, to enable information on their possible mechanisms of action. The phytochemical study showed, in EtOAc and aqueous fractions, the presence of tannins, proanthocyanidins, anthocyanins, phenolics, leucoanthocyanidins, saponins, triterpenes and alkaloids. In the verification of acute toxicity, two groups of mice, each with six animals were treated with EtOH-Ld at the dosages of 300 and 2000 mg/kg, respectively. The subchronic toxicity, four groups of six rats each, were treated with vehicle or EtOH-Ld at the dosages of 100, 500 and 1000 mg/kg. To evaluate the antinociceptive activity of AcOEt and aqueous fractions were performed the following test: hot plate and formalin using male Swiss mice were divided into six groups of six animals that were treated with both fractions at the dosages of 100 and 200 mg/kg, orally. To check the contribution of serotonergic systems, muscarinic cholinergic and dopaminergic, which allows inference about the mechanism of action, we used the formalin test. The results were submitted to analysis of variance and comparison of means by Tukey test ( $p < 0,05$ ). Regarding the acute toxicity, the animals did not

express behavioral changes in either group, and in assessing the subchronic toxicity, were not seen changes worthy of note in the liver, spleen and kidneys as well, no differences were observed between the treated groups and not processed in the biochemical profile ( $p < 0,05$ ). EtOH-Ld in different doses studied showed antinociceptive activity in the fractions acetate and water, and most significant ( $p > 0,05$ ) on the aqueous fraction dosage 200 mg/kg in the formalin test, hot plate. The aqueous fraction (200 mg/kg) of

EtOH-Ld showed better response pathway by muscarinic cholinergic receptor. Thus, it can be concluded that the EtOH-Ld presents no clinical manifestations of acute and chronic toxicity, and the aqueous fraction, at a dose of 200 mg/kg, provides better the antinociceptive effect.

**Keywords:** whips-horse, analgesia, pain, nociception, hot plate, formalin, toxicity, analgesic.

## 1 INTRODUÇÃO

A dor representa um sério problema de saúde, pois a sua ocorrência ocasiona sofrimento, compromete a qualidade de vida e pode gerar incapacidade, tanto em animais quanto em humanos (MARCHAND, 2010; CASTRO et al., 2011). Nestes últimos, a dor tem sido referida como o principal motivo de procura por assistência de saúde, o que acarreta, também, um impacto socioeconômico (SILVA et al., 2013). Porém, a sensação de dor é fundamental para a sobrevivência, pois é o primeiro indicativo de dano tecidual e pode ser produzida por diferentes estímulos entre eles: calor, frio, pressão, corrente elétrica, irritantes químicos, movimentos bruscos, dentre muitos outros (SILVA; RIBEIRO-FILHO, 2011).

Um mesmo estímulo doloroso pode ser percebido de forma distinta por diferentes indivíduos e até pelo mesmo indivíduo em momentos diversificados, o que indica haver um componente emocional intrinsecamente ligado à experiência da dor (CABRAL, 2014).

Apesar de sua ação fisiológica, a dor pode estar associada ao sofrimento em várias patologias, o que desencadeia uma procura constante de novas formas de tratamento dos sintomas dolorosos, buscando encontrar analgésicos potentes e com menos efeitos colaterais, haja vista que os fármacos atualmente disponíveis para combater a dor possuem efeitos adversos bastante significativos e, alguns deles, tais como os opiáceos, podem desencadear tolerância e dependência, impedindo o uso em dores crônicas (RIOS, 2014). Desta forma, ao longo dos anos, tem-se intensificado a procura de novos analgésicos, principalmente derivados de plantas medicinais (SIMÕES et al., 2010; MORI, 2010).

O uso de plantas medicinais, com fins de tratamento e cura de doenças, remonta ao início da civilização, desde o momento em que o homem despertou para a necessidade de procura, manuseio, adaptação e modificação dos recursos naturais em benefício próprio. Esta prática milenar ultrapassou todas as barreiras e obstáculos durante o processo evolutivo e chegou até os dias atuais, sendo utilizada por grande parte da população mundial como recurso terapêutico (MOURA; MAHLKE, 2013).

No Brasil, o uso das plantas medicinais foi disseminado principalmente pela cultura indígena. O País é rico em diversidade florística e, portanto, dotado de fontes potenciais de produtos que podem servir de base para a produção de novos fármacos (SOUSA et al., 2008; FELÍCIO et al., 2011). Apesar de um grande número de espécies já terem sido estudadas ao longo dos anos, ainda há um potencial enorme de

plantas a serem exploradas do ponto de vista da atividade biológica; dentre estas está a *Luehea divaricata* Martius & Zucchini (ou *Luehea divaricata* Mart. & Zucc) (MONTOVANI et al., 2009).

Do ponto de vista botânico a *L. divaricata* é uma árvore de grande porte (de 15 a 30 m), pertencente à família Tiliaceae, popularmente conhecida como “açoita-cavalo” e pode ser encontrada em vários estados brasileiros, incluindo o Piauí (BERNARDI-WENZEL et al., 2010). Suas cascas são popularmente usadas como antipirético, antirreumático, antidiarreico, adstringente e diurético, além de serem indicadas em afecções hepáticas. Às folhas são atribuídas propriedades anti-inflamatórias sendo assim, muito utilizada em afecções do aparelho respiratório e também do urinário. As raízes são também citadas como dotadas de atividade anti-inflamatória (MONTOVANI et al., 2009), mas há poucos relatos científicos na literatura que comprovem a eficácia terapêutica desta espécie.

Trabalho prévio realizado no Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA), utilizando o extrato etanólico das folhas de *L. divaricata*, revelou atividade antinociceptiva em modelos de dor induzida por ácido acético e formalina (BATISTA, 2013), o que justifica a continuidade dos estudos com constituintes desta planta.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

- Avaliar a composição química e a toxicidade do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata* Martius & Zucchini (EtOH-Ld), bem como, a atividade antinociceptiva das frações aquosa e acetato, em modelo animal, e desenvolver os estudos iniciais para a determinação dos possíveis mecanismos de ação.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Analisar os componentes fitoquímicos presente no EtOH-Ld;
- Avaliar os efeitos de toxicidade aguda e subcrônica do EtOH-Ld em camundongos e ratos, respectivamente;
- Verificar a atividade antinociceptiva das frações aquosa e acetato do EtOH-Ld, em modelo de nocicepção térmica (modelo da placa quente) e em modelo de nocicepção química (teste da formalina) em camundongos, por tratamento sistêmico;
- Avaliar o envolvimento dos sistemas serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico em um possível efeito antinociceptivo da fração aquosa do EtOH-Ld.

## 1.2 ESTRUTURAÇÃO DA TESE

Esta tese foi estruturalmente organizado nas seguintes partes: Introdução e Revisão de Literatura, redigidas segundo as normas editoriais do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA) da Universidade Federal do Piauí (UFPI); quatro capítulos, na forma de artigos científicos a serem submetidos

à publicação, assim intitulados: Capítulo I – “Abordagem fitoquímica do extrato EtOH, frações AcOEt e Aquosa das cascas dos caules de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (Malvaceae)”, formatado de acordo com as normas editoriais da revista Química Nova; Capítulo II – “Efeitos da administração aguda e subcrônica do extrato etanólico de *Luehea divaricata*”, formatado de acordo com as normas editoriais da revista Semina: Ciências Agrárias; Capítulo III – “Avaliação das atividades antinociceptivas do extrato etanólico fracionado de *Luehea divaricata*”, formatado de acordo com as normas editoriais da revista Ciência Rural; Capítulo IV – “Avaliação do mecanismo de ação antinociceptiva da fração aquosa do extrato etanólico de *Luehea divaricata* em camundongos”, formatado de acordo com as normas editoriais da revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia; e Considerações finais e Referências, sendo estas duas últimas organizadas também de acordo com as normas do PPGCA/UFPI.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 DOR E NOCICEPÇÃO

A dor é uma manifestação necessária para a sobrevivência, porém a sua persistência causa sofrimento e afeta a qualidade de vida do homem e dos animais, em curto e longo prazo (SALIBA; HUBER; PENTER, 2011). É definida pela *International Association for the Study of Pain* (IASP) como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial, ou descrita em termos de tal dano (IASP, 1994; WHO, 2012).

A palavra dor é originária do latim *dolore* e do grego *poine*, traduzidas por “pena, penalidade ou punição”, daí os antigos acreditarem que o processo doloroso estava associado a castigo dos deuses (FEIN, 2012). Aristóteles postulava a dor como um sentimento e a definia como uma “paixão da alma”, sendo o coração a fonte do fenômeno (DIPIRO, 2005).

A teoria aristoteliana perdurou por aproximadamente 2000 anos e depois os cientistas Descartes, Galen e Versalius a questionaram, afirmando que o cérebro tinha uma participação ativa na sensação dolorosa (ANTONIALLI, 2009). O filósofo francês René Descartes, estudioso das ciências exatas, utilizou métodos para tentar explicar o sofrimento físico e foi o primeiro a afirmar que a dor, partindo da pele, corria por filamentos até ser percebida pelo sistema nervoso (WHITE; STEIN, 2010).

A dor incomodou profundamente os gregos, foi louvada pelos medievais e combatida pelos vitorianos. Embora seja uma sensação comum aos homens, ao longo da história, foi valorizada e explicada de maneiras diferentes. Nos textos épicos e trágicos da Grécia Antiga, a dor é percebida como um ser independente que ataca e “devora” o indivíduo. Para a medicina da Antiguidade, a dor era provocada pelo desequilíbrio dos “humores” - sangue, cólera, fleuma e bile. Essas substâncias combinadas, em diferentes quantidades no corpo, determinariam as características físicas e emocionais das pessoas (CARIELLO; TAVARES, 2002)

Alguns historiadores afirmavam que a dor era um sentimento feminino que deveria ser evitado pelos homens; no século 12 passou a ser valorizada como forma de manifestação de fé; no Renascimento, o

homem é colocado no "centro do universo" (antropocentrismo), assim o sofrimento físico passou, então, a ser associado ao indivíduo e não à religião, começando a surgir estudos de anatomia e dissecação de cadáveres, que antes eram considerados profanação do corpo (WHITE; STEIN, 2010). Estes estudos permitiram a constatação de que a dor é uma experiência única e individual, modificada pelo conhecimento prévio de um dano que pode ser existente ou presumido (GARCIA, 2010).

Alguns autores consideram que os termos dor e analgesia são mais apropriados para o ser humano, enquanto nocicepção e antinocicepção são mais adequados para os animais (WATKINS; MAIER, 2003). Outros afirmam que estes termos podem ser usados para todas as espécies, pois homens e animais experimentam a dor de forma similar, com vias nervosas e neurotransmissores semelhantes (HELLYER et al., 2007) e que a inabilidade de comunicação verbal dos animais não impossibilita a expressão da sensação álgica. Assim tornou-se uma convenção o uso do termo "dor" para pacientes humanos e animais (HELLEBREKERS, 2002; YAZBEK, 2008).

Os estímulos que causam dor nas diferentes espécies animais são muito similares, havendo uma semelhança de limiar de dor para estímulos mecânicos, térmicos ou químicos. A variação entre as espécies não ocorre pela sensação em si, mas pela forma de manifestação comportamental reativa frente ao estímulo doloroso (LUNA, 2008).

Alguns trabalhos consideram que o termo nocicepção não deve ser confundido com dor, por ser uma experiência consciente, enquanto outros defendem que a nocicepção é a primeira fase do mecanismo da dor (STILWELL, 2009). Define-se nocicepção como o processo através do qual os estímulos térmicos, mecânicos ou químicos são detectados por uma superpopulação de fibras nervosas periféricas, chamados de nociceptores (BASBAUM et al., 2009). Refere-se à detecção de lesão tissular por transdutores especializados e ligados às fibras nervosas (especificamente às fibras A $\delta$  e C), que transmitem sinais ao Sistema Nervoso Central (SNC), e que podem sofrer influências internas ou externas, modulatórias ou de bloqueio (ALMEIDA et al., 2010).

Portanto, a dor diz respeito à resposta funcional do corpo à nocicepção. Fisiologicamente, é um mecanismo protetor do organismo que alerta o SNC sobre a existência de estímulos destrutivos nos tecidos do corpo, desencadeando mecanismos que visam limitar a ampliação da lesão, resultando em estratégias comportamentais complexas no intuito de evitar contato com tal estímulo. Porém, o desencadeamento dessa resposta envolve diversas manifestações sistêmicas indesejadas na recuperação de um quadro clínico (LATREMOLIERE; WOOLF, 2009).

O termo nocicepção refere-se ao reconhecimento de sinais dolorosos pelo sistema nervoso, que interpretam informações relacionadas à lesão. O primeiro processo da nocicepção é a transdução de estímulos mecânicos, térmicos e químicos em impulsos elétricos por terminações nervosas livres dos neurônios de primeira ordem, cuja função é preservar a homeostasia tecidual, assinalando uma injúria potencial ou real (KLAUMANN; WOUK; SILAS, 2008; TING et al., 2006).

Nociceptores são, portanto, receptores sensíveis a estímulos nociceptivos. São terminações nervosas livres de fibras A $\delta$  e C do aferente primário nociceptivo, que é neurônio periférico da cadeia neuronal que conduz os impulsos nociceptivos da periferia para o SNC (TRACEY; MANTYH, 2007). No aferente primário nociceptivo se localizam receptores para diversas substâncias algogênicas como histamina, serotonina, bradicinina, tromboxanos, leucotrienos e prostaglandinas (VALL et al., 2011).

Os nociceptores estão presentes em fibras aferentes, que respondem a modalidades de estímulos diferentes. São encontrados tanto em estruturas somáticas (ossos, pele, tecido conjuntivo e músculo) quanto em viscerais e são extremamente heterogêneos, diferindo quanto aos tipos de neurotransmissores que contêm, receptores e canais iônicos que expressam, velocidade de condução, propriedades de resposta ao estímulo nocivo e capacidade de serem sensibilizados durante a inflamação, lesão e/ou doenças (BAUMANN; STRICKLAND, 2008; RIOS, 2014).

Alguns autores classificam estes nociceptores em quatro classes, conforme o tipo de estímulo a que são responsivos: mecânicos, térmicos ou químicos, polimodais e silenciosos (MEYER et al., 2006). Os nociceptores mecânicos respondem a pressão intensa; os térmicos ou químicos respondem a altas temperaturas e substâncias químicas tais como bradicinina, histamina, etc.; os polimodais respondem a estímulos diversificados (mecânicos, térmicos ou químicos); e os silenciosos (pequena proporção de fibras aferentes) que não são responsivos a estímulos, mais podem vir a ser ativados (KRAYCHETE, 2007).

Os nociceptores mecânicos (fibras A $\delta$  e C) foram classificados em dois subtipos: os do grupo ASIC (canais iônicos sensíveis a ácidos) que, quando estimulados, podem gerar potenciais de ação rápidos e correntes transitórias; os tipo II, às vezes denominados DRASIC ou ASIC3, que são canais através dos quais os íons atravessam a membrana celular, que reagem aos componentes com a corrente bifásica (FEIN, 2012). Assim, os neuromediadores periféricos facilitam a despolarização da membrana neuronal por tempo prolongado, exacerbando a hiperalgesia ou a alodinia. Isso pode ser evidenciado pelo aumento da condutividade de canais de sódio ou cálcio ou pela redução do influxo de potássio ou cloro para o meio intracelular (WOOD, 2004).

Os nociceptores são sensibilizados por ação de substâncias químicas (denominadas algogênicas) liberadas em decorrência de processos inflamatórios, traumáticos e/ou isquêmicos (FANTONI; MASTROCINQUE, 2002). Entre essas substâncias podem ser citados acetilcolina, prostaglandinas, histamina, serotonina, bradicinina, leucotrienos, substância P, tromboxana, fator de ativação plaquetária, íons potássio (ROCHA et al., 2007), radicais ácidos, interleucinas, fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ), fator de crescimento nervoso (NGF), monofosfato cíclico de adenosina (AMPC), dentre outras (ANDRADE; CASSU, 2008; BASBAUM et al, 2009).

A dor pode surgir com a ativação de nociceptores periféricos, gerando um potencial de ação; ou pela liberação de neurotransmissores excitatórios como o glutamato, ou por diminuição no limiar da resposta da fibra nociceptiva e nociceptores circundantes, induzindo a sensibilização destes. Além disso, existem nociceptores silenciosos, que normalmente não são ativos, mas são recrutados após algum dano

tecidual e podem, então, responder a uma variedade de estímulos. Assim, quando ativados, estes se tornam sensibilizados e respondem a estímulos nocivos de forma mais intensa (GARCIA et al., 2012; DE LUCIA et al., 2014).

Os impulsos dolorosos estão sujeitos a influências modulatórias centrais e que, em situações de estresse físico, estes estímulos são tolerados (URBAN; GEBHART, 1999; MELZACK; KATZ, 2013). O sistema nociceptivo é capaz de sofrer alterações nos mecanismos de percepção e condução dos impulsos, denominados neuroplasticidade, o que pode aumentar a magnitude da percepção da dor e pode contribuir para o desenvolvimento de síndromes dolorosas crônicas (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

As estruturas do SNC envolvidas na disseminação do sinal doloroso são: córtex, onde ocorre a consciência da dor; hipotálamo, que deflagra reações físicas à dor, como elevação da pressão e taquicardia; tronco cerebral, que entra em estado de alerta; giro do cíngulo anterior, onde a intensidade de dor é avaliada; o córtex pré-frontal, onde há a tomada de decisão ante a dor; e o sistema supressor endógeno, que libera os mediadores como a serotonina, noradrenalina, ácido gamaminobutírico (GABA) e muitos outros (USUNOFF et al., 2006).

O processo antinociceptivo ocorre pela estimulação de vários locais como a substância cinzenta periaquedutal (SCPV), *locus coeruleus* (LC) e o bulbo raquidiano ventromedial rostral (BRVMR), que inclui o núcleo magno da rafe (NMR). Projeções diretas conectam o córtex pré-frontal e insular, o hipotálamo, a amígdala e o tronco cerebral à SCPV. Esta se liga ao NMR no BRVMR o qual, por sua vez, projeta-se para o corno dorsal da medula. O BRVMR é a maior fonte de neurônios do tronco cerebral para o corno dorsal, principalmente para as lâminas I, II e V. Deste modo, a estimulação da SCPV provoca excitação dos neurônios do BRVMR que, por sua vez, liberam neurotransmissores, como serotonina e encefalina, os quais vão inibir as respostas nociceptivas dos neurônios do corno dorsal, provocando assim uma diminuição das respostas à dor (BASBAUM; JESSEL, 2000). A via noradrenérgica proveniente do locus coeruleus, que possui como principal agonista a noradrenalina, exerce um efeito inibitório sobre a transmissão da dor no corno dorsal (BELCHER; RYALL; SCHAFFENER, 1978; MELZACK; KATZ, 2013).

## 2.2 CLASSIFICAÇÃO DA DOR

A dor é considerada como o quinto sinal vital (BOTTEGA et al., 2014) e possui classificação abrangente, envolvendo vários critérios. Quanto à origem, pode ser classificada em: química, neurogênica e mecânica. A dor de origem química procede de alterações metabólicas e eletroquímicas locais causadas por inflamação aguda, perdas teciduais, rupturas vasculares, e outros estímulos. A dor neurogênica decorre de lesões de raízes nervosas que provocam desmielinização em seu trajeto resultando em manifestação dolorosa irradiada aguda ou crônica. Dor mecânica é a produzida por lesão mecânica de um tecido, como compressão e distensão prolongadas (STERIN; GALLEGU, 2005).

Segundo a natureza (ponto de vista fisiológico) a dor pode ser dividida em: nociceptiva, neuropática e complexa ou mista. A dor nociceptiva é aquela originada a partir da estimulação de nociceptores e pode ser subdividida em: somática e visceral. A somática é a processada por receptores de pele e sistema músculo-esquelético, subdividindo-se em: dor superficial (ou cutânea) que ocorre ao nível da pele ou membranas mucosas (por ex., pequenas feridas, queimaduras de primeiro grau) ou dor profunda, em nível de músculos, ossos, articulações, ligamentos, tendões, vasos sanguíneos, fâscias (por ex., fraturas ósseas, dor miofascial) (FEIN, 2012). A dor visceral provém das vísceras ou órgãos, como as cólicas e as oriundas de lesões nos pulmões e outros órgãos internos (MACIEL, 2004). A dor neuropática é originada a partir de lesões ou compressões do sistema nervoso, central ou periférico e a dor complexa ou mista envolve múltiplas características e requer a associação de fármacos para o seu controle (MACIEL, 2004; ALMEIDA et al., 2006).

As dores somática profunda e visceral são causadas por estímulos inevitáveis e apresentam respostas adaptativas específicas; geralmente são subagudas e podem vir acompanhadas de respostas autonômicas ou comportamentais específicas (KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

Quanto ao critério temporal, a dor pode ser classificada em transitória, aguda ou crônica. A transitória caracteriza-se pela ativação dos nociceptores, sem qualquer dano tecidual (MONTE, 2014). A dor aguda caracteriza-se por uma resposta orgânica protetora, pois adverte o indivíduo para uma lesão iminente ou real dos tecidos, gerando respostas reflexas e comportamentais coordenadas, com o objetivo de manter o dano tecidual o mais controlado possível (WOOLF et al., 2000). Já a dor crônica perdura por tempo maior que o esperado de cura, por causa da incapacidade do corpo em restaurar-se (ANTONIALLI, 2009).

### 2.3 ETAPAS DA NOCICEPÇÃO E MECANISMOS REGULATÓRIOS DE SENSIBILIZAÇÃO CENTRAL E PERIFÉRICA

A informação nociceptiva é transmitida da medula espinhal para o encéfalo por seis vias ascendentes, que são os tratos: 1) espinotalâmico, composto por neurônios nociceptivos específicos e axônios de neurônios WDR (neurônios de variação de dinâmica ampla), das lâminas I, V e VII da medula espinhal, que se projetam no sentido contralateral até o tálamo); 2) espinoreticular (axônios de neurônios das lâminas VII e VIII que terminam na formação reticular para logo ascender até o tálamo); 3) espinomesencefálico (axônios de neurônios de projeção das lâminas I e IV que se projetam contralateralmente até a formação reticular mesencefálica, substância cinzenta periaquedutal até os núcleos parabraquiais da formação reticular), 4) espinocervical, originado nas lâminas III e IV e suas fibras fazem uma conexão sináptica no núcleo cervical lateral e no primeiro e segundo segmentos cervicais, para logo chegar ao tálamo através do trato cervicotálâmico; 5) cervicotálâmico (condutor das fibras anteriormente descritas ao tálamo); e 6) espinohipotálâmico, formado por axônios provenientes das lâminas I, V e VIII, que se projetam diretamente no hipotálamo (PINTO, 2000; KLAUMANN; WOUK; SILLAS, 2008).

A nocicepção está dividida em quatro etapas: a transdução, que é a transformação do estímulo nocivo (térmico, tátil ou químico) em elétrico, para posterior condução pelas fibras do sistema nervoso; a transmissão, que corresponde a condução do impulso nervoso da periferia ao SNC; a modulação, conjunto de mecanismos que modificam ou alteram os impulsos nociceptivos, ou seja, evento que aumenta ou diminui a dor (isto é, as vias supressoras da dor são ativadas pelas próprias vias nociceptiva) e a percepção, que ocorrer em dois locais sistema límbico e hipotálamo: resposta emocional; e no córtex: sensação física da dor (PORTO, 2004; LEÃO, 2013).

Os principais tipos de fibras nervosas constituintes da terminação nervosa do nociceptor são: as de pequeno diâmetro, não mielinizados, que conduzem lentamente o impulso nervoso (2 m/seg. = 7,2 km/h), designados fibras C; e as de maior diâmetro, ligeiramente mielinizados, que conduzem impulsos nervosos mais rapidamente (20 m/seg. = 72 km/h) designados fibras A $\delta$  (PATEL, 2010) (KLAUMAN; WOUK; SILLAS, 2008).

As terminações nervosas das fibras nociceptivas A $\delta$  (mielinizadas) e C (amielinizadas), presentes na pele, vísceras, vasos sanguíneos e músculo esquelético, são capazes de transformar o estímulo mecânico, térmico ou químico em estímulo elétrico (receptores periféricos), o qual é transmitido até o SNC e interpretando como dor (ROCHA et al., 2007, GREENE, 2010).

As fibras A $\delta$  (envolvidas na dor rápida, aguda, cortante, ou em alfinetada) foram classificadas em dois subtipos: I, que respondem a temperaturas em torno de 52° C, são insensíveis à capsaicina e possuem resposta mediada pelos receptores do tipo vanilóide 1 (VRL1); e II, que são sensíveis a temperaturas em torno de 43° C, à capsaicina e ativam, via receptores VRL1, canais catiônicos não-seletivos permeáveis ao cálcio (KRAYCHETE, 2007). O receptor do VRL1 é um canal permeável ao cálcio, presente em grandes quantidades no sistema nervoso, que está envolvido em diversas condições fisiopatológicas tais como hiperalgesia térmica, artrite e consolidação da memória (GENRO, 2008).

As fibras C (associadas à dor lenta, maçante, em queimação) também foram classificadas em dois subtipos: I, que contêm substância P e peptídeo relacionado ao gene calcitonina (CGRP) e expressam receptores tirosinase A, para o fator de crescimento nervoso (NGF), e responsivo à capsaicina e a prótons; e II, que expressam receptores purinérgicos P2X3 para adenosina e um grupo de carboidratos de superfície, capazes de se ligarem à lectina IB-4, sensíveis seletivamente a prótons (PATEL, 2010).

Existem diversos mecanismos centrais de regulação da dor, dentre eles ressalta-se a teoria da comporta, proposta por Ronald Melzack e Patrick Wall, em 1965 a qual constitui-se em um modelo de percepção da dor no qual há uma regulação da passagem dos impulsos das fibras aferentes periféricas para o tálamo através dos neurônios de transmissão no corno dorsal. Essa teoria não aborda somente o aspecto sensorial da dor, mas também as variáveis psicológicas e sua influência na sensação dolorosa, por meio de uma avaliação cognitiva e informações de experiências anteriores que estão armazenadas em regiões corticais, superiores ligadas ao componente motivacional (MELZACK; KATZ, 2013).

A sensibilização central provoca alterações dos impulsos periféricos, com adaptações positivas ou negativas, podendo ocorrer redução do limiar ou aumento da resposta aos impulsos aferentes, descargas persistentes após estímulos repetidos e ampliação dos campos receptivos de neurônios do corno dorsal (ROCHA et al., 2007).

Os corpos neuronais das fibras aferentes periféricas são encontrados nos gânglios da raiz dorsal da medula espinhal, que projetam seus terminais centrais até diferentes porções do corno dorsal (PISERA, 2005). Sua estimulação provoca uma hiperalgesia que pode ser primária (no local da lesão tecidual) e secundária (circunda a lesão tecidual) (ROSENOW; HENDERSON, 2003). A sensibilização periférica não é o único responsável por todas as mudanças, devendo existir envolvimento do SNC neste processo (ROCHA et al., 2007; XIE; HUO; TANG, 2009).

Quanto à sensibilização periférica, sabe-se que os nociceptores, quando estimulados, provocam aumento da sensibilidade e redução do limiar de estimulação, elevando e prolongando as respostas aos estímulos nociceptivos. Esse fenômeno provém da inflamação, pois a agressão aos tecidos rompe a membrana celular e seus fosfolípidos são lançados no meio intersticial, onde sofrem a ação enzimática da fosfolipase A-2, que os transforma em ácido araquidônico, iniciando a “cascata do ácido araquidônico”, que apresenta duas vias metabólicas principais: sofre a ação enzimática da lipoxigenase que o transforma em leucotrienos, e das cicloxigenases (COX), dando como produtos finais os tromboxanos e as prostaglandinas (PGs). As prostaglandinas PGE2 e PGI2 agem em receptores acoplados à proteína G (GPCR) do tipo EP1-4 (receptor de prostanóide 1 e 4) e IP3 (inositol trisfosfato), respectivamente, e induzem hiperalgesia de nociceptores periféricos (KLAUMAN; WOUK; SILLAS, 2008; FEIN, 2012). A diversidade das ações da PGE2 é supostamente resultante da sua interação com uma família dos GPCRs, receptores de prostanóides (EP), designados EP1 a EP4, os quais são encontrados em neurônios do gânglio da raiz dorsal (GRD). A ativação dos receptores EP pela PGE2 pode estimular as proteínas quinases (PK) do tipo A (PKA), tipo C (PKC) e as ativadas por mitógenos (MAPK) (FEIN, 2012).

Dois peptídeos resultantes da clivagem de cininas ativas, a bradicinina e calidina, representam as substâncias mais ativas causadoras de dor. A bradicinina atua em receptores B2, os quais são acoplados à ativação de uma isoforma de proteína quinase C (PKC) que fosforila receptores transitórios de potencial do tipo TRV1 (receptores de caráter transitório da vaniloide-1) e facilita a abertura do canal. Além do TRV1, o TRPM8 (receptor de potencial transitório da melatonina-8) e o TRPA1 (receptor de potencial transitório da anquirina-1), dentre outros, também possuem importância na dor (BASBAUM et al., 2009; FEIN, 2012).

## 2.4 INVESTIGAÇÃO FARMACOLÓGICA DE ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

A investigação científica das atividades antinociceptivas de novos fármacos pode ser realizada mediante a adoção de vários protocolos que permitem avaliar os efeitos de substâncias sobre os comportamentos indicativos de dor. Para a pesquisa da atividade analgésica (antinociceptiva) os modelos experimentais mais comuns são o teste de formalina e o teste da placa quente (OLIVEIRA et al., 2005).

O teste da formalina é usado para indução de dor de mediação central e periférica. Este modelo consiste em injetar uma substância irritante no espaço subcutâneo da pata traseira do animal, determinando o surgimento de respostas motoras que permitem avaliar a intensidade da resposta nociceptiva ao estímulo químico (HUNSKAAR et al., 1985). A resposta nociceptiva é medida pela observação do tempo que o animal permanece lambendo, elevando, mordendo ou balançando a pata injetada. Esse teste permite avaliar dois tipos de dor: a dor neurogênica, oriunda da estimulação direta dos neurônios nociceptivos e a dor inflamatória, caracterizada pela liberação de mediadores inflamatórios (HUNSKAAR; HOLE, 1987; MARTINS et al., 2006).

A dor neurogênica começa imediatamente após a injeção da formalina e perdura por cerca de cinco minutos (1ª fase) e está relacionada com a estimulação química direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e, em parte, das fibras do tipo A $\delta$ , associada à liberação de aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e substância P. Essa fase é seguida por um período de quiescência, de cerca de 5-10 minutos, após o qual se desenvolve a 2ª fase da resposta (dor inflamatória), que se inicia 15 a 30 minutos após a injeção, em decorrência da liberação de mediadores pro-inflamatórios como bradicinina, prostaglandinas e serotonina, entre outros (HUNSKAAR; HOLE, 1987; SILVA et al., 2013).

A vantagem do teste da formalina sobre outros métodos de nocicepção é a possibilidade de avaliar dois tipos diferentes de dor ao longo de um período prolongado de tempo e, assim, permitir buscar analgésicos com diferentes mecanismos de ação (RANDOLPH, 1997; SILVA et al., 2013).

O teste da placa quente (hot plate), desenvolvido por Eddy e Leimbach em 1953, permite observar a ação analgésica de compostos por mecanismos centrais, semelhantes aos opiáceos (OLIVEIRA et al., 2005). Este teste avalia a nocicepção térmica, medindo o tempo de reação, que é o tempo entre a colocação do animal na placa e a manifestação de dor, que é caracterizada pelo ato de lambem a pata ou saltar. A placa de aquecimento é mantida a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$ , sendo as aferições realizadas nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após a administração das substâncias a serem analisadas. O tempo de corte é de 30 segundos para evitar danos aos animais (SANTOS et al., 2011; SILVA et al., 2013).

Este modelo utiliza a temperatura como estímulo nociceptivo. Dessa forma, os nociceptores (fibras C e A $\delta$ , principalmente) são estimulados após a ativação dos receptores vaniloides (VRL), especificamente os receptores do tipo VRL-1, que possuem limiar de ativação em  $43^\circ\text{C}$ , e os receptores do tipo VRL-1, que possuem limiar de ativação em  $52^\circ\text{C}$ . Estes últimos são importantes na avaliação da resposta a estímulos térmicos nocivos, pois são responsáveis pela resposta em decorrência do aumento da temperatura (BENEDITO, 2009; SILVA et al., 2013).

Esses testes são importantes para a descoberta de novas drogas, capazes de interagir com os mediadores da dor e/ou inflamação, fornecendo um ponto de partida para a elucidação das vias de efeito antinociceptivo envolvidas, atendendo às necessidades da terapia farmacológica para este tipo de lesão (SILVA et al., 2013).

Outros testes que podem ser utilizados, tais como: o das contorções abdominais induzidas por ácido acético (conhecido como *writhing*), modelo químico de nocicepção, baseado na contagem das contorções da parede abdominal seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores, como resposta reflexa à irritação peritoneal. Este pode ser visto como um modelo geral, não seletivo, para estudos de drogas antinociceptivas (COUTO et al., 2011), uma vez que a irritação local, produzida pela injeção intraperitoneal do ácido acético provoca a liberação de uma variedade de mediadores, tais como a substância P, bradicininas, prostaglandinas, bem como de citocinas pró-inflamatórias tais como IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$  (PINHEIRO et al., 2011).

Também há o Teste de Randall-Selitto que avalia a hipernocicepção, fundamentado na indução de hiperalgesia através de pressão crescente na pata do animal e o Teste de Von Frey, utilizado para avaliar a sensibilidade tecidual ao estímulo mecânico (SILVA et al., 2013).

## 2.5 ENVOLVIMENTO DOS SISTEMAS SEROTONINÉRGICO, COLINÉRGICO E DOPAMINÉRGICO NA ANTINOCICEPÇÃO

Na modulação da dor há um envolvimento de vários sistemas de transmissão, dentre eles: o serotoninérgico, colinérgico, adrenérgico, dopaminérgico, nitrérgico, adenosinérgico e outros (LUSIER; BEAULIEU, 2010).

### 2.5.1 Via serotoninérgica

Há muitos anos se conhece o envolvimento da serotonina (5-HT) no sistema descendente de modulação da dor. Contudo, o envolvimento da 5-HT no processamento da dor é complexo, devido esta poder inibir ou facilitar a transmissão nociceptiva, dependendo da natureza do estímulo nociceptivo aplicado, o local de ação e o subtipo de receptor sobre qual atua. Em nível periférico, a 5-HT atua em combinação com outros mediadores inflamatórios podendo excitar ou sensibilizar fibras nervosas aferentes primárias, contribuindo para a sensibilização periférica e hiperalgesia após a inflamação e lesão dos nervos. No nível espinhal, a 5-HT tem sido implicada na transformação e modulação da dor, com as ações pro-noceptiva e antinociceptiva através de projeções bulboespinhal descendentes. No cérebro, a 5-HT atua no núcleo talâmico (KAYSER et al., 2010).

O sistema inibitório descendente da dor consiste de diversas conexões anatômicas centrais, iniciando pela substância cinzenta periaquedutal, que por sua vez recebe aferências de muitos núcleos diencefálicos (núcleo parafascicular talâmico, núcleo premamilar dorsal, zona incerta, núcleo dorsomedial e ventromedial do hipotálamo, núcleo arqueado) e do tronco encefálico. A SCPV envia projeções para o núcleo paragigantocelular e núcleo magno da rafe (NRM). O NRM, por sua vez, envia fibras serotoninérgicas que se projetam através do funículo dorsolateral para o corno dorsal da medula nas lâminas I, II e IV, onde inibem seletivamente neurônios nociceptivos, incluindo interneurônios e neurônios dos tratos ascendentes. Estimulação elétrica do NRM aumenta a liberação de 5-HT no corno dorsal da medula,

efeito esse bloqueado pelo pré-tratamento com pCPA. Do mesmo modo, o estímulo tóxico aumenta a produção do ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), um metabólito da 5-HT (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998).

A família dos receptores da 5-HT nos mamíferos é ampla, agrupados em sete tipos: 5-HT1 a 5HT7, consistindo de 14 subtipos de receptores diferentes. Embora a 5-HT seja conhecida por desempenhar um papel importante na nocicepção, existe apenas uma avaliação limitada dos subtipos do receptor da 5-HT envolvidos neste processo (5-HT1, 5-HT2 e 5-HT3) e ainda interagem entre si e com outros mediadores químicos da nocicepção (KAYSER et al., 2010; FEIN, 2012). A atividade serotoninérgica parece estar mais relacionada ao controle da dor crônica do que da aguda (TEIXEIRA, 2006).

Alguns fármacos de amplo uso terapêutico exercem sua ação analgésica através da via serotoninérgica. Alguns estudos propõem que a ação analgésica da fenazona, do ácido acetilsalicílico e do acetaminofen se deve, em parte, à ativação da via inibitória serotoninérgica descendente. Outros fármacos utilizados, principalmente no tratamento de algumas modalidades de dor crônica, têm como mecanismo de ação a inibição ou bloqueio da recaptação da serotonina e da noradrenalina. Os antidepressivos são os principais representantes deste grupo e alguns deles possuem uma ação mais seletiva sobre a recaptação da serotonina (grupo da fluoxetina, por exemplo), sendo enquadrados como inibidores seletivos da recaptação da serotonina (RANG et al., 2012b).

### 2.5.2 Via colinérgica

Estudos recentes tem relacionado o sistema colinérgico central na modulação da dor. Diversas condições são reconhecidas como capazes de aumentar a liberação de acetilcolina medular, destacando-se os opióides sistêmicos e a aplicação intratecal de agonistas  $\alpha_2$  adrenérgicos. A liberação de acetilcolina (ACh) pela medula espinhal produz antinocicepção e aumenta a atividade do sistema nervoso simpático. A administração intratecal de agonistas colinérgicos muscarínicos ou de inibidores da colinesterase (anticolinesterásicos) é capaz de promover antinocicepção em ratos, gatos, carneiros e também no homem, atribuindo-se um mecanismo muscarínico nesta ação analgésica (HABERBERGER et al., 2004; HESS, 2006).

A ACh é um mediador químico de sinapses no SNC, no SNP e também na junção neuromuscular. A ACh, seus receptores e o aparato enzimático responsável por sua síntese e degradação, constituem o sistema de neurotransmissão colinérgica. O conhecimento desse sistema, principalmente das vias de sinalização intracelular que se iniciam pela ativação dos receptores colinérgicos, tem sido utilizado no desenvolvimento de novos tratamentos para síndromes neurológicas e psiquiátricas (VENTURA et al., 2010).

A ACh não é utilizada terapêuticamente, por causa de sua ação difusa e hidrólise rápida pela acetilcolinesterase sináptica e butirilcolinesterase plasmática. Seus níveis endógenos podem ser mediados por diversas substâncias envolvidas na transmissão do processo doloroso. Sua liberação é aumentada nos

neurônios do SNC a partir da ativação de receptores opióides pré-sinápticos pela morfina, causando potencialização do efeito antinociceptivo (ABELSON; KOMMALAGE; HOGLUND, 2004).

O aumento dos níveis de acetilcolina intraespinhal durante a analgesia induzida pelos AINEs, como a aspirina, também é conhecido (ABELSON; KOMMALAGE; HOGLUND, 2004).

A ativação do nervo vago (elétrica ou por agonistas colinérgicos) diminuem a resposta inflamatória (teoria do reflexo inflamatório) pela inibição de mediadores inflamatórios (citocinas) produzidos em tecidos periféricos que notificam o SNC da presença de inflamação no organismo. A ativação do nervo vago, cujo neurotransmissor é a ACh, inerva componentes imunológicos como linfonodos, fígado e baço, e isso tem como consequência uma redução da resposta inflamatória (ROCHA, 2013).

A hiperatividade parassimpática ocasionada por drogas ou estimulação direta do nervo vago é considerada como um fenômeno contrarregulador da liberação de citocinas e espécies reativas de oxigênio durante um processo inflamatório (TSUTSUMI et al., 2008).

Experimentos utilizando camundongos *knockout* para receptor  $\alpha$ -7-nicotínico mostraram, in vivo, a relação dessa subunidade na atividade anti-inflamatória colinérgica, visto que os animais mostraram-se mais sensíveis a estímulos inflamatórios liberando níveis mais elevados de TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 no sangue, sugerindo a existência de estreita relação da via colinérgica muscarínica com ações analgésicas/anti-inflamatórias (XIONG et al., 2012; LEIB; KATUS; KAYA, 2013; ROCHA, 2013).

Portanto, o sistema colinérgico é considerado parte de um sistema endógeno de controle da dor, sendo um possível alvo farmacológico para drogas antinociceptivas (BENEDITO, 2013).

### 2.5.3 Via dopaminérgica

A dopamina é um dos neuromoduladores mais estudados na atualidade, sendo considerada um neurotransmissor chave em dores de longa duração (PELLICER et al., 2010; SURMEIER; GRAVES; SHEN, 2014). Um aumento no tônus dopaminérgico inibe a dor de longa duração, e o rompimento de vias dopaminérgicas supraespinhais pode também envolver uma maior percepção da dor. Em algumas espécies, como camundongos e ratos, a apomorfina (agente dopaminérgico não seletivo) causa a hipotermia. Os agentes bloqueadores do receptor de dopamina, como a pimozida e o haloperidol, são capazes de antagonizar competitivamente a hipotermia induzida pela apomorfina (ADAMS, 2003; PELLICER et al., 2010).

O sistema dopaminérgico possui duas famílias de receptores, conhecidos como D1 (D1 e D5) e D2 (D2, D3 e D4). Os receptores D1 são expressos em uma densidade maior que os receptores D2 ou D3, no entanto estes possuem afinidades maiores e são ativados por concentrações menores de dopamina do que os receptores D1 (PAULUS; TRENKWALDER, 2006; PELLICER et al., 2010). Estes receptores causam inibição pré-sináptica da liberação de neurotransmissor pelos aferentes nociceptivos primários. Agonistas de receptores D2 também podem causar antinocicepção por potencializar os efeitos dos opióides endógenos (MILLAN, 2002).

A estimulação dos receptores D1 causa efeitos pró-nociceptivos diretamente, ou por antagonizar as ações dos agonistas D2 ou opióides. Os efeitos da dopamina sobre a nocicepção espinal dependem de sua concentração local: baixos níveis podem ativar os receptores D2 que reduzem a nocicepção, enquanto que altos níveis de dopamina ativam os receptores D1 que aumentam a nocicepção (PAULUS; TRENKWALDER, 2006)

O sistema dopaminérgico é um importante alvo implicado nas desordens cognitivas e afetivas, que está intimamente relacionado com a saúde mental, devido ao conhecimento de que a função dopaminérgica reduzida também está implicada na fisiopatologia da depressão. A atividade dopaminérgica pode atenuar o comportamento nociceptivo em animais (MAGNUSSON; FISHER, 2000), ocorrendo, por outro lado, a hiperalgesia naqueles que apresentam redução na liberação de dopamina (GAO et al., 2001; MUROTANI et al., 2010). Os efeitos farmacológicos das drogas antipsicóticas apresentam semelhanças nos seres humanos e nos animais (D'AQUILA et al., 2000; PELLICER et al., 2010).

#### 2.5.4 Outras vias

O sistema opióide representa um importante alvo para avaliação de mecanismo de ação de novas substâncias com propriedades antinociceptivas. A ativação dos receptores opióides (sobretudo  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$ , acoplados à proteína G) leva ao fechamento de canais para cálcio voltagem-dependentes nas terminações nervosas pré-sinápticas, o que reduz a liberação de neurotransmissores, além disso, a ativação desses receptores leva a abertura de canais de potássio ( $K^+$ ) cálcio dependentes, produzindo hiperpolarização da membrana celular de neurônios pós-sinápticos, reduzindo a liberação de neurotransmissores (a exemplo da substância P), pelos terminais centrais do neurônio aferente primário. Estes agonistas atuam, ainda, ativando as vias inibitórias descendentes (GRAEFF; GUIMARÃES, 2000).

Existem estudos que demonstram o importante papel exercido pelo sistema purinérgico (adenosina e adenosina trifosfato) na transmissão dolorosa tanto periférica quanto central (SAWYNOK, 1998; SEGERDHAL; SOLLEVI, 1998; SAWYNOK, 1999), a partir do conhecimento de que: análogos da adenosina produzem efeito antinociceptivo em vários modelos de nocicepção; a liberação de adenosina em nível espinal contribui para a eficácia de opióides; e que a cafeína, que é um antagonista dos receptores de adenosina A1, A2A e A2B, potencializa a atividade analgésica de AINES, quando administrados concomitantemente. Apesar de ainda não terem o mecanismo bem elucidado, substância que interferem com o sistema adenosinérgico podem representar uma nova ferramenta farmacológica para a dor (BENEDITO, 2013).

A via da L-Arginina e do óxido nítrico (NO) também possui destacado papel na fisiopatologia da dor. O NO é encarregado da ativação da guanilato ciclase solúvel e elevação do GMPc intracelular, o que o habilita a modular uma série de funções fisiológicas e participação na nocicepção central e periférica, agindo como pró-nociceptivo ou como antinociceptivo, dependendo da concentração. Porém o verdadeiro mecanismo do óxido nítrico estar envolvido nesse duplo efeito ainda é obscuro (ZAKARIA et al., 2005).

Outros participantes da cadeia de eventos da nocicepção são os canais iônicos, os quais pertencem a uma família de proteínas que formam poros em membranas lipoprotéicas e que se encarregam de controlar o fluxo de partículas carregadas eletricamente (íons) entre os meios interno e externo das células. A compreensão do funcionamento, da estrutura e regulação desses canais leva ao entendimento de muitos processos fisiopatológicos, dentre esses, a sensação dolorosa (FEIN, 2012).

Uma das funções mais marcantes dos canais para  $K^+$  está na manutenção do potencial de repouso da membrana de todas as células. No entanto, à medida que os estudos acerca desses canais se intensificam, novas funções são atribuídas a eles (HILLE, 2001).

Todos os tipos de canais para  $K^+$  parecem estar envolvidos no processo de antinocicepção. A abertura de canais para  $K^+$  e o conseqüente aumento da condutância a esse íon para o exterior da célula leva a hiperpolarização celular, não ocorrendo, assim, a propagação do estímulo nociceptivo (RANG et al., 2012a).

Na maioria das células excitáveis, a corrente de entrada que dá início ao potencial de ação resulta da ativação dos canais para sódio regulados por voltagem (Nav). Os canais de sódio também estão envolvidos na gênese da nocicepção por participarem do processo de hiperexcitabilidade neuronal. Podem ser classificados em dois grandes grupos: os sensíveis à tetrodoxina (TTXs), que estão presentes nas fibras  $A\delta$ , em todo o sistema nervoso e no gânglio da raiz dorsal; e os resistentes à tetrodoxina (TTXs), que são encontrados especialmente nas fibras C do gânglio da raiz dorsal (KRAYCHETE, 2007).

Os neurotransmissores centrais foram identificados em várias regiões do sistema nervoso (principalmente nas lâminas I, II, V, VII e X), e incluem a substância P, a colecistocinina, a somatostatina, o CGRP, o peptídeo intestinal vasoativo (VIP), a dinorfina, a oxitocina, os ácidos glutâmico e aspártico e a adenosina. Esses neurotransmissores podem ser liberados de maneira conjunta e agir em locais distantes daqueles da liberação, e provocar potencial pós-sináptico inibitório ou excitatório, dependendo da quantidade e do local em que são liberados (WOOD, 2004).

As lesões que se iniciam no sistema nervoso periférico modificam a anatomia e fisiologia do sistema nervoso central com hiperatividade celular, que é predominante nas lâminas I, II e V do corno dorsal da medula espinhal, no tálamo e no córtex cerebral. Isso pode se manter por um longo período ou indefinidamente, justificando o caráter crônico da dor. A sensibilização medular sináptica clássica é consequência da liberação de aminoácidos excitatórios (aspartato e glutamato), de peptídeos (a substância P e CGRP) e de neurotrofinas (NGF, BDNF) no corno dorsal da medula espinhal (BASBAUM et al., 2009).

O ácido glutâmico e o ácido aspártico são os neurotransmissores excitadores mais importantes no SNC. Os receptores do glutamato mais bem conhecidos são os receptores NMDA (N-metil-D-Aspartato) e AMPA (*alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol -propiónico*) (FEIN, 2012).

Os receptores NMDA do glutamato são também canais iônicos que aumentam a permeabilidade ao sódio. Porém, diferem dos receptores AMPA porque normalmente estão bloqueados pelo magnésio, dependendo do potencial de membrana. Este mecanismo intervém na gênese do fenômeno da dor. Os

receptores AMPA do glutamato são canais iônicos permeáveis ao sódio que provocam a normal despolarização rápida dos neurônios. Esse mecanismo, associado ao recrutamento de outras sinapses que veiculam informações das áreas vizinhas ao local ou distantes da origem da dor, pode explicar fenômenos como a hiperalgesia (aumento da resposta ao estímulo nociceptivo) ou alodinia (estímulo não agressivo provocando dor (MARIZ: SILVA, 2006; FEIN, 2012).

## 2.6 FÁRMACOS USADOS NO CONTROLE DA DOR

A busca incessante de condutas terapêuticas para controle da dor é uma tarefa laboriosa. Apesar de o arsenal terapêutico disponível ser extenso (medicamentos alopáticos, homeopáticos, fitoterápicos e terapias complementares) ainda há lacunas a serem preenchidas. Muitas síndromes dolorosas são complexas e envolvem mais de um tipo de dor, com diferentes componentes associados (LUNA, 2006). O tratamento iniciado antes da injúria inibe o processo de sensibilização periférica e central. Portanto, uma das estratégias mais aceitas atualmente envolve a combinação de fármacos e técnicas que promovam efeito sinérgico (SILVA et al., 2010; LOPES, 2013).

Os primeiros medicamentos analgésicos obtidos a partir das plantas medicinais foram comercializados no século XIX, sendo à base de morfina, extraída da papoula (*Papaver somniferum*) e do ácido salicílico, extraído da casca de salgueiro (*Salix* spp.). Atualmente, novos analgésicos são obtidos desta mesma fonte, como a capsaicina obtida da pimenta (*Capsicum annuum*), ziconotide, um peptídeo extraído do molusco marinho *Conus magus* e compostos canabinoides extraídos da *Cannabis sativa* (tetraidrocanabinol, canabidiol e outros) (LI; VEDERAS, 2009; RUSSO, 2008; SCHMIDT et al., 2008).

A abordagem mais comum para reduzir a dor e a inflamação envolve a utilização de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). No entanto, devido à complexidade do processo algésico, várias categorias de fármacos são utilizados no seu controle terapêutico. Dentre eles citam-se: analgésicos opióides, anestésicos gerais, anestésicos locais, agonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos, bloqueadores adrenérgicos, antidepressivos, antagonistas de NMDA, benzodiazepínicos, fenotiazínicos, relaxantes musculares e nutracêuticos (ANDRADE; CASSU, 2008; LOPES, 2013).

Os AINEs possuem efeito anti-inflamatório, analgésico e antipirético. Esses efeitos estão relacionados à inibição das enzimas COX-1 e COX-2 que catalisam a transformação do ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos, que medeiam o processo inflamatório. São usados para o controle da dor aguda, sendo rapidamente absorvidos, posteriormente metabolizados pelo fígado (GOTZSCHE, 2003; ARAUJO et al., 2005; MOORE, 2009).

Os opióides são derivados da semente da papoula *Papaver somniferum* (MCCURDY; SCULY, 2005). A morfina é o opióide mais utilizado, principalmente em pacientes que sofrem de dor crônica (ANDERSEN; CHRISTRUP; SJOGREN, 2003; MCDOUGALL, 2011). Os efeitos biológicos dos opióides são mediados por receptores ( $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\kappa$ ) expressos no cérebro e medula espinhal e na periferia, que estão

associados a uma variedade de respostas fisiológicas e psicológicas desencadeadas por ligantes endógenos e exógenos. Apresenta efeitos analgésicos, sedativos e hipnóticos (LANG et al., 2010).

Os anestésicos gerais não são considerados analgésicos. Atuam bloqueando a percepção da dor induzindo o córtex cerebral a não percepção da informação nociceptiva (inconsciência) que está sendo recebida. Os anestésicos locais inibem a passagem de íon sódio pelos canais íons-seletivos nas membranas nervosas, retardando a velocidade de despolarização e impedindo a propagação do potencial de ação, prevenindo a transmissão do impulso nervoso e a excitação do nociceptor ou inibindo o processo modulatório de nocicepção (KLAUMANN et al., 2008).

A analgesia dos agonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos decorre da ativação de receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos no SNC, que provoca diminuição da liberação de neurotransmissores nociceptivos, como substância P e o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina – CGRP (ANDRADE; CASSU, 2008). Bloqueadores adrenérgicos ( $\alpha$  ou  $\beta$ ) são usados no controle de certos tipos de cefaléia, cuja patogênese está relacionada a desequilíbrios neurológicos ou de humor (YALCIN et al., 2010). Alguns antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, imipramina e clomipramina) são adjuvantes na terapêutica da dor, por bloquearem a captação de serotonina e noradrenalina, colaborando com o sistema analgésico endógeno (ANDRADE; CASSU, 2008).

Entretanto, o uso destes fármacos sem as devidas orientações médicas ou por longos períodos, pode levar ao aparecimento de sérias reações adversas. Devido a estes fatores, a busca por novas alternativas terapêuticas para o tratamento da dor e inflamação, como o uso de espécies vegetais, tem sido estimulado pelo Ministério da Saúde no Brasil (BASTING et al., 2014).

Uma nova classificação das substâncias farmacológicas usadas no controle da dor envolve uma proposição da Organização Mundial de Saúde (WHO) e do IASP, sendo considerada uma nova taxonomia para as substâncias analgésicas (LUSSIER; BEAULIEU, 2015). Baseia-se no mecanismo de interferência no estímulo doloroso, que abrange seis grandes grupos e vários sub-grupos: 1) analgésicos antinociceptivos, incluindo os agentes não opióides (acetaminofén e AINEs), os opióides e os canabinóides; 2) antihiperálgicos, envolvendo os antagonistas de n-metil d-aspartato (NMDA), gabapectinóides, óxido nítrico, coxibes e outros; 3) moduladores da inibição ou excitação dependente, dentre os quais os antidepressivos tricíclicos, inibidores da recaptção de norepinefrina-serotonina, inibidores seletivos da recaptção de serotonina e os agonistas  $\alpha$ -2 adrenérgicos; 4) moduladores da transmissão/sensibilização periférica, como os anestésicos locais, carbamazepina, topiramato e capsaicina; 5) moduladores da inibição ou excitação descendente, como o tramadol e o tapentadol; 6) outros agentes como a calcitonina e os bifosfanatos (LUSSIER; BEAULIEU, 2010; LUSSIER; BEAULIEU, 2015).

Dentre as condutas consideradas menos convencionais de combate à dor, ressaltam-se: os estímulos elétricos e mecânicos, a acupuntura e outras terapias complementares, dentre elas o uso de plantas medicinais (VEIGA-JUNIOR, 2008).

## 2.7 PLANTAS MEDICINAIS

Iniciou-se há milhares de anos o uso de produtos naturais por populações de vários países com a finalidade de tratar diversas patologias, como forma alternativa ou complementar aos medicamentos sintéticos. As plantas medicinais têm um importante papel na saúde mundial (SOUSA et al., 2008).

Algumas plantas com atividade psicoativa exercem efeitos importantes sobre a consciência, as emoções e a cognição, sendo utilizadas há muito tempo com finalidades terapêuticas, espirituais e recreacionais. A investigação farmacológica de produtos naturais com atividade sobre o SNC tem auxiliado a compreensão das bases neuroquímicas de muitas doenças. Extratos vegetais e produtos deles isolados exercem suas ações através de interações com moléculas endógenas transdutoras de sinais (RANG et al., 2012a).

A Etnofarmacologia é a parte da farmacologia que estuda a exploração científica interdisciplinar dos agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados pelo homem como recursos terapêuticos (NIEHUES et al., 2011). Historicamente, a utilização de plantas como fonte de produtos terapêuticos acompanha a humanidade e, apesar do enorme desenvolvimento da síntese química, 25% dos fármacos prescritos no mundo são de origem vegetal (CARVALHO, 2006).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças é influenciada pelas culturas indígena, africana e europeia. A cultura brasileira sofreu sérias influências desta mistura de etnias, tanto no aspecto espiritual, como material, que se fundiram aos conhecimentos existentes hoje no País. Atualmente, observa-se o ressurgimento da medicina natural, enfatizando as plantas medicinais para restabelecimento da saúde humana. Com este acontecimento, inúmeras terapias alternativas e naturais despontam para alimentar as necessidades de bem estar do ser humano (BORBA; MACEDO, 2006).

Um dos fatores que contribui para a larga utilização de plantas para fins medicinais no Brasil é o grande número de espécies vegetais encontradas no País, as quais contribuem para descoberta e novas substâncias que possam integrar o mercado farmacêutico (BORBA; MACEDO, 2006; FELÍCIO et al., 2011).

Um estudo de revisão revelou a existência de 210 espécies vegetais cujos extratos apresentaram atividade antinociceptiva em testes de laboratório, o que mostra a grande diversidade de fontes de princípios ativos oriundos de vegetais (ALMEIDA, NAVARRO; BARBOSA FILHO, 2001).

Dentre as várias espécies de plantas brasileiras, de interesse medicinal na área de dor e inflamação, a *L. divaricata* (Tiliaceae) possui diversos usos etnofarmacológicos relatados, na forma de infusão das folhas e decoto das cascas, com finalidades anti-inflamatória, antianêmica, diurética, antisséptica bucal, dentre outras (PIO CORRÊA, 1984; ALICE et al., 1995).

### 2.7.1 *L. divaricata*

A *Luehea divaricata* Martius & Zucchini (Fig. 1) é uma espécie pertencente à ordem Malvales, da família Tiliaceae, conhecida popularmente como açoita-cavalo, ibatingui, ivatingui, açoita-cavalo-miúdo,

pau-de-canga, caiboati, esteiveira, que vem despertando interesse científico. O nome “açoita-cavalo” foi atribuído devido à flexibilidade de seus galhos e ao seu uso como chicote em animais (TANAKA et al., 2005; MULLER, 2006; CARVALHO, 2008; WALKER et al., 2008).

Figura 1- Espécie *Luehea divaricata* Martius & Zucchini e detalhe da sua flor (à direita)



Fonte: arquivo pessoal da autora.

É uma planta arbórea, de caráter decíduo, que atinge dimensões próximas a 30m de altura, tem rápido crescimento, muito utilizada nos reflorestamentos mistos de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992; MULLER, 2006; CARVALHO, 2008; FELÍCIO et al., 2011).

Sua floração acontece dos meses de dezembro a abril, em alguns estados brasileiros, podendo ocorrer em outros locais entre os meses de novembro a julho. A frutificação geralmente se dá entre fevereiro a julho ou de abril a outubro, dependendo da região (CARVALHO, 2008).

Pode ser encontrada nos Estados do Piauí, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul, e também em outros países sul-americanos como: Argentina, Uruguai e Paraguai (CARVALHO, 2006; CARVALHO, 2008).

É usada na medicina popular brasileira para diferentes finalidades: a infusão das folhas e o decoto das cascas são utilizados como agentes anti-inflamatório, antianêmico, diurético, antissepsia bucal, entre outros (PIO CORRÊA, 1984; ALICE et al., 1995); as cascas, folhas e flores são comercializadas em feiras populares com indicação para o combate a disenteria, reumatismo, tumores, lesões de pele, acne, afecções dos aparelhos respiratório e urinário; a infusão das flores é usada no tratamento da bronquite e a raiz é considerada depurativa e anti-inflamatória (TANAKA et al., 2003).

Siqueira (2006) observou a eficácia do extrato hidroalcoólico da casca de *L. divaricata* no tratamento de úlceras gástricas em ratos, o qual revelou a presença de flavonóides, taninos, antocianinas e triterpenos. Já Tanaka et al. (2005) demonstraram que as frações aquosa e acetato de etila foram moderadamente ativas contra *Staphylococcus aureus*, enquanto a fração butanólica inibiu discretamente o crescimento *S. aureus* e a fração hexânica apresentou atividade fraca contra a mesma bactéria. Tais frações não demonstraram atividade fungistática ou fungicida nos ensaios antifúngicos testados, e apresentaram efeito

citostático na concentração de 25 µg/mL e 250 µg/mL. Relataram ainda a presença de um flavonoide epicatequina no extrato bruto metanólico das cascas do caule.

Uma análise fitoquímica das folhas da *L. divaricata* demonstrou a presença de flavonoides, saponinas, taninos caquéticos, mucilagem, e em menor quantidade, alcaloides, óleos fixos, antocianinas, carotenoides, e polissacarídeos (BORTOLUZZI et al., 2002).

É importante ressaltar que o extrato aquoso de plantas, que é a preparação utilizada pela população em geral, tende a apresentar maior capacidade antioxidante (COURTES, 2014).

A análise do extrato etanólico bruto das folhas da planta *L. divaricata*, coletadas no povoado Alegria, zona rural de Teresina – PI, evidenciou atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, na dosagem de 160 mg/Kg, resultados esses que podem ser justificados pela presença de esteróides, leucoantocianidinas, heterosídeos saponínicos e triterpenos pentacíclicos livres, fenóis e flavonoides, demonstrados na análise fitoquímica do referido extrato (BATISTA, 2013).

Em Santa Maria-RS, um estudo avaliou a ação do extrato aquoso da folha da planta *L. divaricata* no modelo experimental de Doença de Huntington (DH) induzida por 3-nitropropionico (3-NP), administrado em ratos Wistar na dosagem de 500 mg/kg e 1000 mg/kg. Nesse estudo, foi verificado que o extrato aquoso das folhas de *L. divaricata* inibiu a oxidação e as alterações comportamentais induzidas pelo tratamento com 3-NP, ou seja, foi eficaz na prevenção de sintomas da DH induzidos pela administração de 3-NP (MULLER, 2006). Portanto, esta planta pode ser utilizada como um agente potencial para estudos na área de dor e doenças neurológicas associadas com danos oxidativos.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação etnofarmacológica da *L. divaricata* (açoita cavalo) e seu uso em comunidades carentes com o objetivo de aliviar a dor, motivou a realização deste trabalho.

A pesquisa fitoquímica do extrato etanólico das cascas do caule de *L. divaricata* revelou como compostos predominantes: taninos, antocianidinas, antocianinas, fenóis, leucoantocianidinas, saponinas, triterpenos e alcaloides. O extrato bruto da *L. divaricata* não apresentou manifestações clínicas de toxicidade aguda e subcrônica, visto que: 1) os animais não apresentaram comportamentos diferentes entre os grupos tratados e não tratado; 2) não houveram alterações nos perfis bioquímicos analisados; e 3) ausência de morte.

Os resultados obtidos a partir do modelo de nocicepção química mostraram que a fração aquosa da casca do EtOH-Ld, na posologia de 200 mg/kg, apresentou efeito antinociceptivo, provavelmente de origem periférica, pois foi capaz de elevar o limiar de dor induzida pela administração intraplantar de formalina. Este efeito envolveu, provavelmente, o sistema colinérgico muscarínico e, aparentemente, não teve relação com as vias serotoninérgica e dopaminérgica.

Pelo modelo de nocicepção térmica (placa quente) percebeu-se que, na fase inicial do processo doloroso (neurogênico), provavelmente houve participação das fibras aferentes dos tipos Aδ e C,

geralmente ativadas pela liberação de aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e substância P. E que na segunda etapa (inflamatória), provavelmente houve inibição da liberação de mediadores pró-inflamatórios, bem como, bloqueio da dor de forma semelhante ao opióide morfina.

Este é o primeiro relato que se tem notícia acerca da ação analgésica da fração aquosa isolada do extrato etanólico desta planta em modelos de dor. Estudos subsequentes são necessários para efetivamente elucidar os mecanismos envolvidos na ação e estabelecer esquemas posológicos seguros. Portanto, há grandes perspectivas de continuidade dos estudos com esta planta.

## REFERÊNCIAS

- ABELSON, K. S.; KOMMALAGE, M.; HOGLUND, A. U. Spinal cholinergic involvement after treatment with aspirin and paracetamol in rats. **Neuroscience**, v.16, p.116-120, 2004.
- ADAMS, H. R. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 8ª ed. Editora Guanabara Koogan, 2003.
- ALICE, C. B.; SIQUEIRA, N. C. S. da; MENTEZ, L. A.; SILVA, G. A. de A. B. e; JOSÉ, K. F. D. **Plantas medicinais de uso popular**. Atlas Farmacognóstico. Canoas: Editora da ULBRA/RS, 1995.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants with central analgesic activity. **Phytomedicine**, v. 8, p. 310-322, 2001.
- ALMEIDA, T. P.; MAIA, J. Z.; FISCHER, C. D. B.; PINTO, V. M.; PULZ, R. S.; RODRIGUES, P. R. C. Classificação dos processos dolorosos em medicina veterinária – revisão de literatura. **Veterinária em Foco**, v.3, n.2, p.107-118, 2006.
- ALMEIDA, F. F.; COSTA JUNIOR, A. L.; DOCA, F. N. P.; TURRA, V. Experiência de Dor e Variáveis Psicossociais: o Estado da Arte no Brasil. **Temas em Psicologia**, v.18, n.2, p.367-376, 2010.
- ANDERSEN, G.; CHRISTRUP, L.; SJOGREN, P. Relationships among aorphine metabolism, pain and side effects during long-term treatment: an update. **Journal of Pain Symptom Management**, v.25, p.74-91, 2003.
- ANDRADE, S. F.; CASSU, R. N. Analgésicos. **In**: ANDRADE, S. F. Manual de terapêutica veterinária. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. p.98-113.
- ANTONIALLI, C. S. **Avaliação do efeito do ácido mirsinóico B em diferentes modelos de hipernocicepção inflamatória e neuropática persistente em camundongos**. Itajaí, 2009. 97p. Dissertação de Mestrado (Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas). Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2009.
- ARAÚJO, L. F.; SOEIRO, A. M.; FERNANDES, J.L.; SERRANO JUNIOR, C. V. Eventos Cardiovasculares: Um Efeito de Classe dos Inibidores de COX-2. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.85, n.3, 2005.
- BASBAUM, A.; JESSEL, T. M. The perception of pain. **In**: KANDEL, E. R.; SCHAWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. Principles of Neuroscience. 4 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2000. p.472-491.
- BASBAUM, A. I.; BAUTISTA, D. M.; SCHERRER, G.; JULIUS, D. Cellular and molecular mechanisms of pain. **Cell**, v.139, n.2, p.267-84, 2009.
- BAUMANN, T. J.; STRICKLAND, J. Pain Management. **In**: DIPIRO, J. T. et al. Pharmacotherapy “A Pathophysiologic Approach”. 7 th ed. The Macgraw-Hill Companies: USA, 2008, p.989-1050
- BASTING, R. T.; NISHIJIMA, C. M.; LOPES, J. A.; SANTOS, R. C.; PÉRICO, L. L.; LAUFER, S.; BAUER, S.; COSTA, M. F.; SANTOS, L. C.; ROCHA, L. R. M.; VILEGAS, W.; SANTOS, A. R. S.; SANTOS, C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.041i>

- BATISTA, E. K. F. **Abordagem farmacológica da planta *Luehea divaricata* Martius: avaliação de suas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória.** Teresina, 2013. 70p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciência Animal). Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, 2013.
- BELCHER, G.; RYALL, R. W.; SCHAFFNER, R. The differential effects of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and raphe interneurons in the cat. **Brain Research**, v.151, p.307-321, 1978.
- BENEDITO, R. B. **Efeito antinociceptivo do monoterpene (S)-(-)-álcool perílico em camundongos.** João Pessoa, 2009. 83p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2009.
- BENEDITO, R. B. **Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e avaliação histopatológica cerebral do (S)-(-)-álcool perílico em camundongos.** João Pessoa, 2013. 108p. Tese de Doutorado (Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2013.
- BERNARDI-WENZEL, J.; GARCÍA, A.; FILHO, C. J.; PRIOLI, A. J.; PAMPHILE, J. A. Evaluation of foliar fungal endophyte diversity and colonization of medicinal plant *Luehea divaricata* (Martius et Zuccarini). **Biological Research**, v.43, p.375-384, 2010.
- BOTTEGA, F. H.; BENETTI, E. R. R.; BENETTI, P. E.; GOMES, J. S.; STUMM, E. M. F. Avaliação da dor em neonatos e crianças em terapia intensiva. **Revista de Pesquisa: cuidado é fundamental online**, v.6, n.3, p.909-917, 2014.
- BORTOLUZZI, R. C.; WALKER, C. I. B.; MANFRON, M. P.; ZANETTI, G. D. Análise química qualitativa e morfo-histológica de *Luehea divaricata* Mart. **XVIII Simpósio de plantas medicinais do Brasil, Anais**, Cuiabá/MT, 2002.
- CABRAL, D. M. C. **Prevalência de dor crônica e identificação de fatores associados em um segmento da população da cidade de São Paulo.** São Paulo, 2014. 115p. Dissertação de Mestrado (Programa de Medicina Preventiva). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2014.
- CARIELLO, R.; TAVARES, R. De fera a impulso elétrico. 22/02/2002. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/treinamento/epidemiadador/te2202200215.htm>>. Acesso em: 25 nov. 2014.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v.1, 2008.
- CARVALHO, J.E. Atividade antiulcerogênica e anticâncer de produtos naturais e de síntese. **Multiciência**, v.7, p.1-18, 2006.
- CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos centrais de transmissão e de modulação da dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.48, n.3, p.221-240, 1998.
- CASTRO, M. M. C.; QUARANTINI, L. C.; DALTRO, C.; PIRES-CALDAS, M.; KOENEN, K. C.; KRAYCHETE, D. C.; OLIVEIRA, I. R. Comorbid depression and anxiety symptoms in chronic pain patients and their impact on health-related quality of life. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v.38, n.4, p.126-129, 2011.
- COURTES, A. A. **Efeito protetor do extrato aquoso de *Luehea divaricata* contra os danos oxidativos e comportamentais induzidos pelo ácido 3-nitropropiônico em ratos.** Uruguaiana, 2014. 58p.

- Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Bioquímica). Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana-RS, 2014.
- COUTO, V. M.; VILELA, F. C.; DIAS, D. F.; SANTOS, M. H.; SONCINI, R.; NASCIMENTO, C. G.; GIUSTI-PAIVA, A. Antinociceptive effect of extract of *Emilia sonchifolia* in mice. **Journal Ethnopharmacology**, n.134, v.2, p.348-353, 2011.
- D'AQUILA, P. S.; COLLU, M.; GESSA, G. L.; SERRA, G. The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. **European Journal of Pharmacology**, v.405, p.365-73, 2000.
- DE LUCIA, R.; PLANETA, C. S.; GALLACC, M.; AVELLAR, M. C. W.; OLIVEIRA FILHO, R. M. **Farmacologia Integrada: uso racional de medicamentos**. vol. 2. São Paulo: Clube dos Autores, 2014.
- DIPIRO, J. T.; TALBERT, R. L.; YEE, G. C.; MATZKE, G. R.; WILLS, B. G.; POSEY, L. M. **Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach**. 6 ed. New York: Medical Publishing Division, 2005.
- DICKENSON, A.; BESSON, J. M. **The Pharmacology of Pain** (Handbook of Experimental Pharmacology). Springer, 2011.
- EDDY, N. B.; LEIMBACH, D. Synthetic analgesics. II. dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.107, p.385-393, 1953.
- FANTONI, D. T.; MASTROCINQUE, S. Fisiopatologia e Controle da Dor. **In: FANTONI, D.T.; CORTOPASSI, S. R. G. Anestesia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2002.
- FEIN, A. Nociceptores. As células que sentem dor. 2012. Disponível em: <[http://cell.uchc.edu/pdf/fein/nociceptores\\_tradu%C3%A7%C3%A3o\\_2012\\_fein.pdf](http://cell.uchc.edu/pdf/fein/nociceptores_tradu%C3%A7%C3%A3o_2012_fein.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2014.
- FELÍCIO, L.P.; SILVA, E. M.; RIBEIRO, V.; MIRANDA, C. T.; VIEIRA, I. L. B. F.; PASSOS, D. C. S.; FERREIRA, A. K. S.; VALE, C. R.; LIMA, D. C. S.; CARVALHO, S.; NUNES, W. B. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. **Genetics and Molecular Research**, v.10, n.1, p.16-24, 2011.
- GAO, X.; ZHANG, Y. Q.; ZHANG, L. M.; WU, G. C. Effects of intraplantar injection of carrageenan on central dopamine release. **Brain Research Bulletin**, v.54, p.391-394, 2001.
- GARCIA, J.B.S. Dor neuropática. **Sociedade Brasileira para Estudos da Dor**, f.2, p.1-7, 2010.
- GARCIA, T. A.; Nunes, A. X.; Teixeira, D. G.; Ferreira, C. M. R. Influência dos receptores 5-HT<sub>3</sub> no processamento nociceptivo de ratos submetidos ao teste da formalina. **Revista Neurociências**, v.20, n.4, p.527-533, 2012.
- GENRO, B. P. **Papel dos receptores VR1 hipocâmpais sobre a consolidação da memória**. Porto Alegre, 2008. 71p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Neurociências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2008.
- GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2000.
- GREENE, S. A. Chronic pain: pathophysiology and treatment implications. **Topics in Companion Animal Medicine**, n.1, v.25, p.5-9, 2010.

- GOTZSCHE, P. C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Clin Evid**, v.9, p.1292-1300, 2003.
- HABERBERGER, R. V.; BERNARDINI, N.; KRESS, M.; HARTMANN, P.; LIPS, K. S.; KUMER, W. Nicotinic acetylcholine receptor subtypes in nociceptive dorsal root ganglion neurons of the adult rat. **Autonomic Neuroscience**, v.113, p.32-42, 2004.
- HELLEBREKERS, L. **Dor em animais: uma abordagem com orientação prática para um controle eficaz da dor em animais**. São Paulo: Manole, 2002.
- HELLYER, P.; RODAN, I.; BRUNT, J.; DOWNING, R.; HAGEDORN, J. E.; ROBERTSON, S. A. Pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.43, p.235-248, 2007.
- HESS, S. **Atividade antinociceptiva do ácido mirsinóico B**. Itajaí, 2006. 108p. Dissertação de Mestrado (Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas). Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2006.
- HILLE, B. **Ion Channels of Excitable Membranes**. 3 ed. Massachusetts: Sinauer, 2001.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, n.1, p.103-14, 1987.
- HUNSKAAR, H. S.; FASMER, O. B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of Neuroscience Methods**. v.14, p.69-76, 1985.
- IASP – International Association for the Study of Pain Taxonomy. 2011. Pain terms, a current list with definitions and notes on usage. p. 209-214. 1994. Disponível em: < [www.iasp-pain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/default.htm](http://www.iasp-pain.org/Content/NavigationMenu/GeneralResourceLinks/PainDefinitions/default.htm)>. Acesso em: 14 set. 2011.
- KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILAS, T. Patofisiologia da dor. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.1, p.1-12, 2008
- KAYSER, V.; BOURGOIN, S.; VIGUIER, F.; MICHOT, B.; HAMON, M. Toward deciphering the respective roles of multiple 5-HT in the complex serotonin-mediated control of pain. **In**: BEAULIEU, P.; LUSSIER, D.; PORRECA, F.; DICKENSON, A. Pharmacology of pain. IASP Press, cap. 9, p. 185-206, 2010.
- KRAYCHETE, D. C. 2007. Simbidor - Arquivos do 8º Simpósio Brasileiro e Encontro Internacional sobre Dor. Disponível em: <[http://www.simbidor.com.br/publicacoes/arquivos\\_simbidor\\_2007.pdf](http://www.simbidor.com.br/publicacoes/arquivos_simbidor_2007.pdf)> Acesso em: 28 fev. 2015.
- LANG, L. J.; PIERER, M.; STEIN, C.; BAERWALD, C. Opioids in rheumatic diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1193, p.111-116, 2010.
- LATREMOLIERE, A.; WOOLF, C. J. Central sensitization: a generator of pain hypersensitivity by central neural plasticity. **The Journal of Pain**, v.10, n.9, p.895-926, 2009.
- LEÃO, J. Facilitando dor: eventos fisiológicos da dor como mecanismo de defesa. 02/09/2013. Disponível em: <<http://medicinafontes.blogspot.com.br/2013/09/facilitando-dor-mecanismos-fisiologicos.html>>. Acesso em: 19 nov. 2014.

- LEIB, C.; KATUS, H. A.; KAYA, Z. Cholinergic control of inflammation in cardiovascular diseases. **Trends in Cardiovascular Medicine**, v.23, n.2, p.46-51, 2013. Review article. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcm.2012.08.010>
- LI, J. W.-H.; VEDERAS, J. C. Drug Discovery and Natural Products: End of an Era or an Endless Frontier? **Science**, v.325, n.5937, p.161-165, 2009.
- LOPES, J. A. **Avaliação do efeito antinociceptivo, anti-inflamatório e gastroprotetor do extrato hidroalcoólico das entrecascas de *Machaerium hirtum* (Vell) Stellfeld**. Botucatu, 2013. 108 f. Dissertação de mestrado (Pós-graduação em Ciências Biológicas). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu-SP, 2013.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum. 1992.
- LUNA, S.P.L. Dor, sciência e bem-estar em animais. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v.11, supl.1, p.17-21, 2008.
- LUSSIER, D. BEAULIEU, P. Toward a rational taxonomy of analgesic drugs. **In**: BEAULIEU, P.; LUSSIER, D.; PORRECA, F.; DICKENSON, A. H. *Pharmacology of Pain*. Seattle: IASP Press, 2010. p.27-40.
- LUSSIER, D. BEAULIEU, P. **Adjuvant analgesics**. Oxford American Pain Library, 2015.
- MACIEL, M. G. S. A dor crônica no contexto dos cuidados paliativos. **Prática Hospitalar**, v. 6, n.35, 2004.
- MAGNUSSON, J. E.; FISHER, K. The involvement of dopamine in nociception: the role of D (1) and D (2) receptors in the dorsolateral striatum. **Brain Research**, v.855, p.260-266, 2000.
- MARCHAND, S. Applied pain Neurophysiology. **In**: BEAULIEU, P.; LUSSIER, D.; PORRECA, F.; DICKENSON, A. H. *Pharmacology of Pain*. IASP Press, 2010. p.3-26.
- MARIZ, S. R.; SILVA, B. A. A importância de canais iônicos para a ação de fármacos causadores de dependência. **Revista de Ciências Médicas**, v.15, n.2, p.131-142, 2006.
- MARTINS, M. A.; DE CASTRO BASTOS, L.; TONUSSI, C. R. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. **Journal of Pain**, v.7, n.2, p.100-107, 2006.
- MCCURDY, C. R.; SCULLY, S. S. Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals). **Life Sciences**, v.78, p.476-484, 2005.
- MCDUGALL, J. J. Peripheral analgesia: hitting pain where it hurts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1812, p.459-467, 2011.
- MELZACK, R.; KATZ, J. Pain. **Wires Cognitive Science**, v.4, p.1-15, 2013.
- MEYER, R.A. et al. Peripheral mechanisms of cutaneous nociception. **In**: MCMAHOM, S. B.; KOLTZENBURG, M. (Ed.). *Wall and Melzack's textbook of pain*. 5th. ed. Churchill Livingstone: Elsevier, 2006.
- MILLAN, M. J. Descending control of pain. **Progress in Neurobiology**, v.66, p.355-474, 2002.

- MONTE, L. O. **Efeito antinociceptivo do Salicilato de Bornila em camundongos**. João Pessoa, 2014. 77p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2014.
- MONTOVANI, P. A. B.; GONÇALVES JÚNIOR, A. C.; MORAES, A.; FIORENTINI, F.; MEINERZ, C. Atividade antimicrobiana do extrato de açoita-cavalo (*Luehea* sp.). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3731-3735, 2009.
- MOORE, N. D. In search of an ideal analgesic for common acute pain. **Acute Pain**, v.11, p.129-137, 2009.
- MORI, F.; CODECÀ, C.; KUSAYANAGI, H.; MONTELEONE, F.; BUTTARI, F.; FIORE, S.; BERNARDI, G.; KOCH, G.; CENTONZE, D. Effects of anodal transcranial direct current stimulation on chronic neuropathic pain in patients with multiple sclerosis. **Journal of Pain**, v.11, n.5, p.436-42, 2010.
- MOURA, A. K. S.; MAHLKE, J. D. Controle de qualidade da espécie *Achyrocline satureoides* (lam.) DC por análise fitoquímica. **Caderno de Ciências Biológicas e da Saúde**, v.3, 2013.
- MULLER, J. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius**. Santa Maria, 2006. 99p. Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2006.
- MUROTANI, T.; ISHIZUKA, T.; NAKAZAWA, A.; WANG, X.; MOKI, K.; SASAKI, K.; ISHIDA, T.; YAMATODANI, A. Possible involvement of histamine, dopamine, and noradrenalin in the periaqueductal gray in electroacupuncture pain relief. **Brain research**, v.1306, p.62-68, 2010.
- OLIVEIRA, R. B.; COSTA, E. A.; VALADARES, M. C.; CUNHA, L. C. Avaliação das atividades anti-inflamatória e analgésica de extrato de *Synadenium umbellatum*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p.137-139, 2005.
- PATEL, N. B. **Fisiologia da dor**. In: IASP, 2010. p.9-13.
- PAULUS, W.; TRENKVALDER, C. Less is more: pathophysiology of dopaminergic-therapy-related augmentation in restless legs syndrome. **Lancet Neurology**, v.5, n.10, p.878-886, 2006.
- PELLICER, F.; ORTEGA-LEGASPI, J. M.; LÓPEZ-AVILA, A.; COFFEN, U.; JAIMES, O. Dopamine pathways and receptors in nociception and pain. In: BEAULIEU, P.; LUSSIER, D.; PORRECA, F.; DICKENSON, A. Pharmacology of pain. IASP Press, 2010. p. 241-252.
- PINHEIRO, B.; SILVA, A.; SOUZA, G.; FIGUEIREDO, J.; CUNHA, F.; LAHLOU, S.; DA SILVA, J. K.; MAIA, J. G.; SOUSA, P. J. Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. **Journal Ethnopharmacology**, v.188, p.479-486, 2011.
- PINTO, M. S. C. T. A percepção da dor receptores envolvidos. **Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa**, v.5, p.253-262, 2000.
- PISERA, D. Fisiologia da dor. In: OTERO, P. E. Avaliação e tratamento em pequenos animais. São Paulo: Interbook, 2005. p.30-75.
- PIO CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Desenvolvimento Florestal. Ministério da Agricultura, 1984.

PORTO, C.C. **Exame clínico:** bases para a prática médica. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

RANDOLPH, B. C.; PETERS, M. A. Analgesic effectiveness of ketorolac compared to meperidine in the rat formalin test. **Anesthesia Progress**, n.44, v.1, p.11-16, 1997.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. HENDERSON, G. Fármacos Analgésicos **In:** \_\_\_\_\_ Farmacologia. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012a. p. 503-524.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. HENDERSON, G. Fármacos Antidepressivos **In:** \_\_\_\_\_ Farmacologia. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012b. p. 564-583.

RIOS, E. R. V. **Efeito antinociceptivo do acetato de citronelila: estudo dos possíveis mecanismos de ação.** Fortaleza, 2014. 115p. Tese de doutorado (Programa de Pós-graduação em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2014.

ROCHA, A. P. C.; KRAYCHETE, D. C.; LEMONICA, L.; CARVALHO, L. R. de; BARROS, G. A. M. de; GARCIA, J. B. dos S.; SAKATA, R. K. Dor: Aspectos Atuais da Sensibilização Periférica e Central. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.57, n.1, p.94-105, 2007.

ROSENOW, J. M.; HENDERSON, J. M. Anatomy and physiology of chronic pain. **Neurosurgery Clinics of North America**, v.14, p.445-462, 2003.

RUSSO, E. B. Cannabinoids in the management of difficult to treat pain. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v.4, n.1, p.245-259, 2008.

SALIBA, R.; HUBER, R.; PENTER, J.D. Controle da dor em pequenos animais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, supl.1, p.1981-1988, 2011.

SANTOS, E. N.; LIMA, J. C. S.; NOLDIN, V. F.; CECHINEL-FILHO, V.; RAO, V. S. N.; LIMA, E. F.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; SOUSA JUNIOR, P. T.; MARTINS, D. T. O. Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of methanol extract of *Cariniana rubra* stem bark in animal models. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.83, n.2, p.557-566, 2011.

SAWYNOK, J. Adenosine receptor activation and nociception. **European Journal of Pharmacology**, v.347, p.1-11, 1998.

SAWYNOK, J. Purines and pain management. **Current Opinion in Investigational drugs**, v.1, p.27-28, 1999.

SCHMIDT, B.; RIBNICKY, D. M.; POULEV, A.; LOGENDRA, S.; CEFALU, W. T.; RASKIN, I. A natural history of botanical therapeutics. **Metabolism**, v.57, sup.1, p.S3-S9, 2008.

SEGERDAL, M.; SOLLEVI, A. Adenosine and pain relief: a clinical overview. **Drug Development Research**, v.45, p.151-158, 1998.

SILVA, R. T.; MARCHETTO, A.; PEDRINELLI, A.; SANTILI, C.; LAURINO, C. F. S.; MEIRELLES, E. S.; LEÃO, E. R.; POSSO, I. P.; BELLOTI, J. C.; RUNCO, J. L.; DEMANGE, M. K.; LECH, O.; CANTO, R. S. T.; ROMANEK, R. M.; LASMAR, R. P.; ZYLBERSZTEJN, S. Consenso brasileiro sobre dor perioperatória em ortopedia e traumatologia desportiva. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.45, p.2-16, 2010.

- SILVA, J.A.; RIBEIRO-FILHO, N.P. A dor como um problema psicofísico. Artigo de Revisão. **Revista Dor**, v.12, n.2, p.138-151, 2011.
- SILVA, J. C.; SARAIVA, S. R. G. L.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. G.; ALMEIDA, J. R. G. S. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais : uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.1, p.18–23, 2013.
- SIMÕES, C. M. O. S., E. P. et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Editora da UFSC e UFRGR Editora, 6 ed., 1º reimpressão, 2010.
- SIQUEIRA, M.G. **Atividade antiulcerogênica do extrato bruto hidroalcoólico da *Luehea divaricata* Martus et Zurccarine**. Campinas, 2006. 89p. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação de Ciências Médicas). Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2006.
- SOUSA, F. C. F.; MELO, C. T. V.; CITÓ, M. C. O.; FÉLIX, F. H. C.; VASCONCELOS, S. M. M.; FONTELES, M. M. F.; BARBOSA FILHO, J. M.; VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.642-654. 2008.
- STERIN, G. M.; GALLEGO, F. C. Fundamentos da fisioterapia na terapêutica da dor. **In: OTERO, P. E. Avaliação e tratamento em pequenos animais**. São Paulo: Interbook, 2005. p.212-225.
- STILWELL, G. T. **Pain evaluation and control after routine interventions in cattle**. 2009. Tese de Doutorado (Doutorado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa. 2009.
- SURMEIER, D. J.; GRAVES, S. M.; SHEN, W. Dopaminergic modulation of striatal networks in health and Parkinson's disease. **Current Opinion in Neurobiology**, n.29, p.109–117, 2014.
- TANAKA, J. C. A.; VIDOTTI, G. J.; SILVA, C. C. A New Tormentic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.14, n.3, p.475-478. 2003.
- TANAKA, J. C. A., et al. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* MART. (Tiliaceae). **Química Nova**, v.28, p.834-837, 2005.
- TEIXEIRA, Manuel Jacobsen. **Dor: manual para o clínico**-São Paulo: Editora Atheneu, 2006.
- TING, E. et al. Indirect mechanism of histamine-induced nociception in temporomandibular joint of rats. **Life Science**, v.81, n.9, p.765-771, 2006.
- TRACEY, I.; MANTYH, P. W. The cerebral signature for pain perception and its modulation. **Neuron**, v.55, p.377-391, 2007.
- TSUTSUMI, T.; IDE, T.; YAMATO, M.; KUDOU, W.; ANDOU, M.; HIROOKA, Y.; UTSUMI, H.; TSUTSUI, H.; SUNAGAWA, K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. **Cardiovascular Research**, v.77, p.713-721, 2008.
- URBAN, M. O.; GEBHART, G. Central mechanism in pain. **Medical Clinics of North America**, v.83, n.3, p.585-596, 1999.
- USUNOFF, K. G.; POPRATILOFF, A.; SCHMITT, O.; WREE, A. Functional neuroanatomy of pain. **Advances in Anatomy Embryology and Cell Biology**, v.184, p.1-126, 2006.

VALL, J.; COSTA, C. M. C.; SANTOS, T. J. T.; COSTA, S. B. C. Neuropathic pain characteristics in patients from Curitiba (Brazil) with spinal cord injury. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.69, n.1, p.64-68, 2011.

VEIGA-JUNIOR, V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.2, p.308-313, 2008.

VENTURA, A. L. M.; ABREU, P. A.; FREITAS, R. C. C.; SATHLER, P. C.; LOUREIRO, N.; CASTRO, H. C. Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v.37, n.2, p.66-72, 2010.

VIANA, G. S. B. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.642-654, 2008.

WALKER, C. I. B. ZANETTI, G. D.; CERON, C. S.; MANFRON, M. P. Morfoanatomia e Histoquímica das Folhas de *Luehea divaricata* Mart. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.2, p.203-210, 2008.

WATKINS, L. R.; MILLIGAN, E. D.; MAIER, S. F. Immune and glial involvement in physiological and pathological exaggerated pain states. In: DOSTROVSKY, J. O.; CARR, D. E.; KOLTZENBERG, M. *Advances in Pain Research and Therapy*. Seattle: IASP Press, 2003. p.

WHITE, W.; STEN, C. **Histórico, definições e opiniões atuais**. In: IASP, 2010, p.1-5.

WHO. Guidelines on the pharmacological treatment of persisting pain in children with medical illnesses. World Health Organization, p. 1-167. 2012. Disponível em: <[http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/2012/en/](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/)> Acesso em 28 jan. 2015.

WOLF, C. J. Pain. **Neurobiology of Disease**, v.7, p.504-510, 2000.

WOOD, J. N. Recent advances in understanding molecular mechanisms of primary afferent activation. **Gut**, v.53, suppl II; p.ii9-ii12, 2004. doi: 10.1136/gut.2003.033423

XIE, Y.; HUO, F.; TANG, J. Cerebral cortex modulation of pain. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.30, n.1, p.31-41, 2009.

XIONG, J.; YUAN, Y. J.; XUE, F. S.; WANG, Q.; CHENG, Y.; LIAO, X.; LIU, J. H. Posconditioning with  $\alpha 7nAChR$  agonist attenuates systemic inflammatory response to myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. **Inflammation**, v.35, n.4, p.1357-1364, 2012.

YALCIN, I. et al. Chronic treatment with agonists of  $\beta 2$ -adrenergic receptors in neuropathic pain. **Experimental Neurology**, v.221, p.115-121, 2010.

YAZBEK, K. V. B. Avaliação da dor e da qualidade de vida em cães com câncer. **Revista Dor**, v.9, n.3, p.1297-1304, 2008.

ZAKARIA, Z. A.; SULAIMAN, M. R.; SOMCHIT, M. N.; JAIS, A. M.; ALI, D. I. The effects of L-arginine, D-arginine, L-NAME and methylene blue on channa striatus-induced peripheral antinociception in mice. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.8, p.199-206, 2005.

## Abordagem fitoquímica do extrato EtOH, frações AcOEt e aquosa das cascas dos caules de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (MALVACEAE).

 10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-002

### Hébelys I. Trindadea

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Campus Agrícola da Socola s/nº CEP: 64049-550, Teresina – PI, Brasil.  
E-mail: hebelys@yahoo.com.br

### RESUMO

*L. divaricata* pertence à família Malvaceae, utilizada na medicina popular brasileira para diferentes fins. O objetivo era analisar qualitativamente a composição fitoquímica do extrato de etanol e EtOAc e frações aquosas de conchas de *L. divaricata*. Foi utilizado para extrair e a solução hidroalcoólica das frações fitoquímicas para exame dos seguintes constituintes: fenóis, taninos e antocianinas, antocianidinas, flavonóides, leucoantocianidinas, catequinas, flavonas, flavonóis, flavononas, flavonóis, xantonas, diidroflavonóis, esteróides, triterpenos, saponinas e alcalóides. Conclui-se que o extrato de etanol apresentou como principais componentes as seguintes classes de compostos: alcalóides, fenóis, saponinas, taninos, triterpenos, antocianidinas, antocianinas, leucoantocianidinas.

### 1 INTRODUÇÃO

A família Malvaceae é composta por cerca de 119 gêneros e 1500 espécies distribuídas por todo mundo, principalmente em regiões tropicais.<sup>1</sup> No Brasil é constituída aproximadamente por 68 gêneros, 731 espécies (379 endêmicas), 5 subespécies (nenhuma endêmica) e 16 variedades (5 endêmicas).<sup>2</sup>

O gênero *Luehea* Willd. pertence à família Malvaceae e é constituído por 10 espécies (3 endêmicas) e 2 variedades (1 endêmica) no Brasil.<sup>2</sup> *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. é uma espécie não endêmica e ocorre no Paraguai, Argentina, Uruguai e Brasil, principalmente nos estados da Bahia, Piauí, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do Sul).<sup>2,3</sup> É conhecida popularmente como açoita-cavalo, açoita-cavalo miúdo, pau-de-canga, caiboti, ibatingui e ivatingui.<sup>4,5</sup> As folhas desta espécie são utilizadas na medicina popular no tratamento de disenteria, leucorréia, reumatismo, blenorragia e tumores, além disso, a infusão das flores é usada contra bronquite e a raiz é depurativa.<sup>4</sup>

Estudos farmacológicos com os extratos metanólicos e aquoso das folhas da *Luehea divaricata* demonstraram várias atividades, tais como: antifúngica, antimicrobiana, antiproliferativa, genotóxica, antioxidante e mutagênica.<sup>5,6,7,8,9</sup> O estudo fitoquímico das folhas possibilitou o isolamento de dois triterpenos, uma flavona e um esteroide a partir do extrato metanólico.<sup>10,5</sup>

**Palavras-chave:** cavalinhos, extrato de etanol, testes fitoquímicos.

### ABSTRACT

*L. divaricata* belongs to the Malvaceae family, used in Brazilian folk medicine for different purposes. The objective was to qualitatively analyze the phytochemical composition of the ethanol extract and EtOAc and aqueous fractions of *L. divaricata* shells. Was used to extract and the hydroalcoholic solution of the phytochemical fractions tests for examination of the following constituents: phenols, tannins and anthocyanins, anthocyanidins, flavonoids, leucoanthocyanidins, catechins, flavones, flavonols, flavonones, flavononols, xanthenes, dihydroflavonols, steroids, triterpenes, saponins and alkaloids. It is concluded that the ethanol extract presented as the main components the following classes of compounds: alkaloids, phenols, saponins, tannins, triterpenes, anthocyanidins, anthocyanins, leucoanthocyanidins.

**Keywords:** horse-whips, ethanol extract, Phytochemicals tests.

Já o estudo com extrato metanólico das cascas do caule apresentou atividades antifúngica, antimicrobiana e antiproliferativa<sup>5</sup> e estudo químico do mesmo restringiu-se ao isolamento de apenas uma substância, o flavonoide (-)-epicatequina.<sup>5</sup>

O extrato metanólico das partes aéreas apresentou atividade antimicrobiana.<sup>11</sup> Além disto, os extratos diclorometano e aquoso das cascas apresentaram efeitos antifúngicos e antigenotóxico, respectivamente.<sup>12,4</sup>

O Quadro 1 apresenta as atividades farmacológicas comprovadas da espécie *L. divaricata*, enquanto o Quadro 2 e Figura 1 mostram os constituintes químicos isolados e suas respectivas classes.

Quadro 1. Potencial farmacológico da espécie *L. divaricata*.

PARTE DA PLANTA	EXTRATO/ COMPOSTO	ATIVIDADE	REFERÊNCIA
<b>Folhas</b>	EM	Antifúngica Antimicrobiana Antiproliferativa	5
	EA	Genotóxica	6
	EA	Antioxidante	7
	Não informado	Mutagênica	8
	Não informado	Antimicrobiana	9
<b>Casca</b>	EDCM	Antifúngica	12
	EA	Antigenotóxica	4
<b>Cascas do caule</b>	EM	Antifúngica Antimicrobiana Antiproliferativa	5
<b>Partes aéreas</b>	EM	Antimicrobiana	11
<b>Não informado</b>	(Tirosol) 2-(4-hidroxifenol)-etanol	Antimicrobiana	13

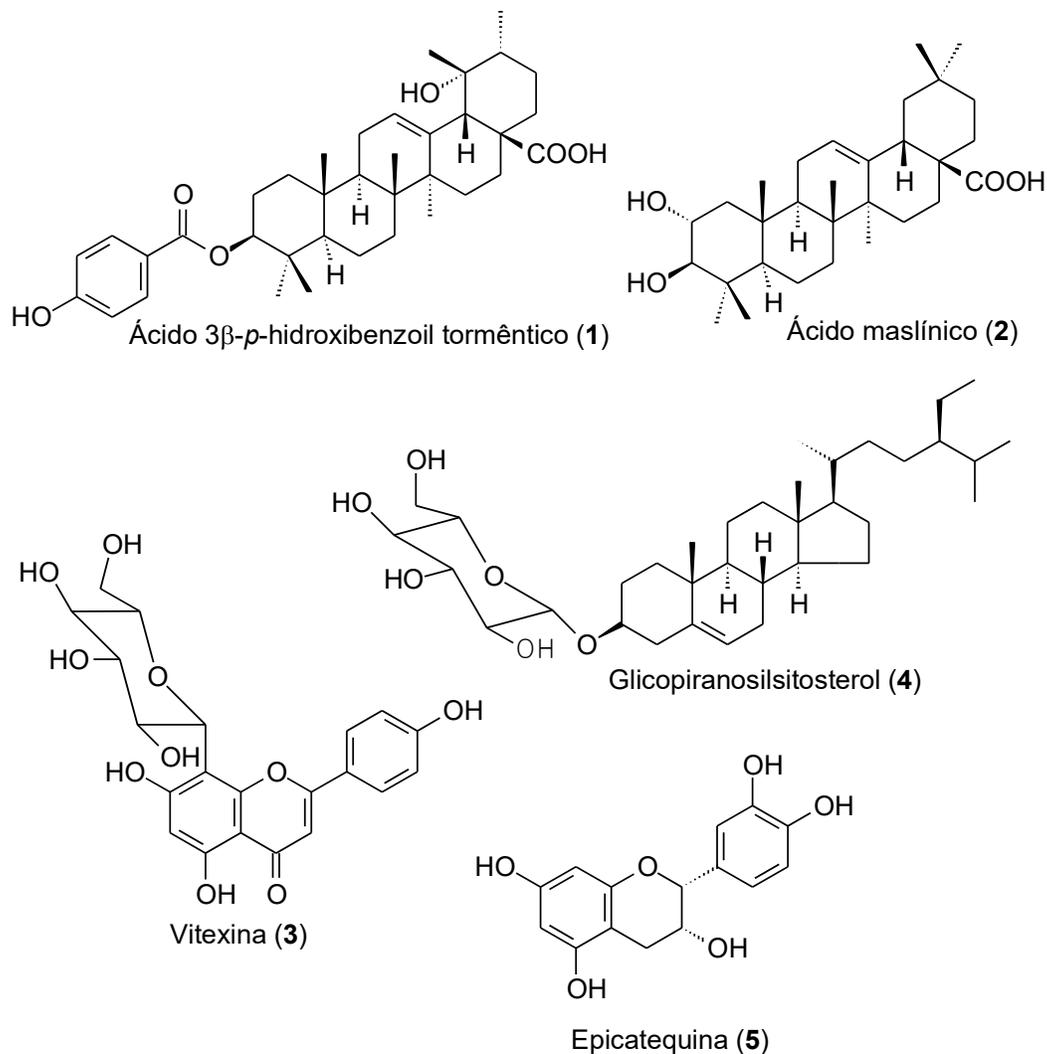
Nota: EM: Extrato metanólico; EA: Extrato aquoso; EDCM: Extrato diclorometânico.

Quadro 2. Constituintes químicos isolados na espécie *L. divaricata*.

PARTE DA PLANTA	EXTRATO	COMPOSTO	REFERÊNCIA
Folhas	EM	<b>Triterpeno</b> Ácido 3β- <i>p</i> - hidroxibenzoiltormêntico (1) Mistura contendo o ácido maslínico (2)	10
		<b>Triterpeno</b> Ácido 3β- <i>p</i> - hidroxibenzoiltormêntico (1) Mistura contendo o ácido maslínico (2)	5
	EM	<b>Flavona</b> Vitexina (3)	5
	EM	<b>Esteróide</b> Glicopiranosilstitosterol(4)	
Casca do Caule	EM	<b>Flavonoide</b> (-)-Epicatequina (5)	
Não informado		<b>Composto fenólico</b> (Tiroso) 2-(4-hidroxifenol)-etanol	13

Nota: EM: Extrato metanólico.

Figura 1. Estrutura dos constituintes químicos isolados de *L. divaricata*.



Com isto, pode-se constatar que há poucos estudos abordando os aspectos químico e farmacológico desta espécie. Assim, este trabalho objetivou analisar qualitativamente a composição fitoquímica do extrato etanólico e frações AcOEt e aquosa das cascas de *Luehea divaricata*.

## 2 PARTE EXPERIMENTAL

### Material vegetal

As cascas do caule de *Luehea divaricata* Mart & Zucc foram coletadas no povoado Bebedouro, no município de Nazária, Estado do Piauí, em 30 de dezembro de 2013. O material vegetal foi identificado e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Graziela Barroso com o número TEPB 30.119. As cascas foram secas em estufa ( $\pm 45$  °C) de circulação de ar forçada por uma semana e depois moída em moinho de facas obtendo-se um pó (3,4 kg).

### Preparação do extrato etanólico

Após secagem e moagem, o material vegetal foi submetido à extração por maceração com etanol (99,5%) por cinco vezes consecutivas ao abrigo da luz, sendo posteriormente filtrada e a solução obtida concentrada em evaporador rotatório a 40 °C e, após liofilização foi obtido 170 g (5%) do extrato etanólico bruto que foi acondicionado em frasco de vidro âmbar e conservado em refrigerador.

### Partição do extrato etanólico

O extrato bruto foi suspenso na mistura MeOH/H<sub>2</sub>O (1:2) obtendo-se um volume de 1500 mL e submetido a uma partição líquido-líquido com hexano (20 x 200 mL) e AcOEt (32 x 200 mL) sucessivamente fornecendo as frações hexânica (3 g, 1,8%), AcOEt (40 g, 24%) e aquosa (113 g, 67%).

### Testes fitoquímicos

Os testes qualitativos para detecção dos constituintes do metabolismo secundário foram realizados por meio de reações gerais, segundo metodologia adaptada.<sup>14, 15</sup>

Uma alíquota de 1 g do extrato EtOH e das frações AcOEt e aquosa das cascas do caule de *L. divaricata* foi solubilizada em uma mistura de EtOH/H<sub>2</sub>O (8:2) obtendo-se um volume de 100 mL. A solução hidroalcoólica do extrato e da frações foi utilizada nos testes fitoquímicos para a análise dos seguintes constituintes: fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas, flavonoides, leucoantocianidinas, catequinas, flavonas, flavonóis, flavononas, flavononóis, xantonas, diidroflavonóis, estéroides, triterpenos, saponinas e alcaloides.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa fitoquímica tem como objetivo conhecer possíveis constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar qualitativamente sua presença, indicando assim grupos do metabolismo secundário; desta forma, pode contribuir no processo de isolamento e identificação dos princípios ativos vegetais<sup>16</sup>.

O extrato etanólico das cascas do caule de *Luehea divaricata* e as frações obtidas da sua partição líquido-líquido (F. AcOEt e F. aquosa) apresentaram resultado positivo para diversas classes de metabólitos secundários, conforme mostrado na Tabela 1.

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional no tratamento de diversas enfermidades, como diarreia, hipertensão arterial, hemorragias, feridas, gastrite, úlcera gástrica, problemas renais, afecção urinária e processos inflamatórios em geral.<sup>16</sup>

As leucoantocianidinas são polifenóis naturais pertencentes à classe dos bioflavonóides. Sua característica principal é a ação antioxidante hidrossolúvel presente em sua estrutura que chega a ser mais forte que a vitamina E. Sua ação antioxidante se deve ao fato das leucoantocianidinas eliminarem qualquer espécie de radicais livres envolvidas no processo<sup>17</sup>. As antocianinas apresentam propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que ajudam na prevenção de doenças cardiovasculares, neurológicas, câncer, diabetes, dentre outras<sup>18</sup>. As antocianidinas possuem atividade anti-inflamatória por inibição da liberação e da síntese de substâncias endógenas que provocam inflamação como a histamina, protease e leucotrienos<sup>16</sup>.

Os triterpenos são compostos com várias potencialidades medicinais, apresentando atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antiviral, analgésica, cardiovascular, antitumoral e anti-HIV<sup>19,20</sup>.

As saponinas apresentam uma variedade de propriedades biológicas devido a sua capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolípidos de membranas, podendo apresentar atividade hemolítica, moluscicida, espermicida, anti-helmíntica, hipocolerestomiantes, anti-inflamatória e anti-viral<sup>16</sup>.

O flavonoide epicatequina (5) e o composto fenólico (Tirosol) 2-(4-hidroxifenol)-etanol foram identificados em extrato metanólico das cascas do caule<sup>5,13</sup>, o que não aconteceu neste estudo, o qual houve apenas a suspeita da presença de catequina na análise fitoquímica, isto pode decorrer da pequena quantidade desta substância nas amostras, ou ainda da dificuldade de visualização do resultado, devido à presença de interferentes. Estes achados sugerem a necessidade de estudos posteriores a fim de melhor caracterizar as substâncias presentes nas cascas do caule de *L. divaricata*.

Tabela 1. Resultados da abordagem fitoquímica do extrato etanólico e frações da casca de *Luehea divaricata*.

Classes de metabólitos	E. EtOH	F. AcOEt	F. Aquosa
Alcaloides	+	+	+
Antocianidinas	++	++	++
Antocianinas	++	++	++
Catequinas	S	S	S
Esteroides	0	0	0
Fenóis	++	++	++

Flavonoides	S	S	S
Flavonóis	0	0	0
Flavononas	0	0	0
Flavononóis	0	0	0
Leucoantocianidinas	++	+++	+++
Saponinas	++	++	++
Taninos	+++	+++	+++
Triterpenos	++	++	0
Xantonas	0	0	0

---

PARÂMETROS: ausente (0), suspeito (S), fraco (+), médio (++), forte(+++).

#### 4 CONCLUSÃO

O extrato etanólico das cascas do caule de *L. divaricata* apresenta como principais constituintes fitoquímicos as seguintes classes de compostos: taninos, antocianidinas, antocianinas, fenóis, leucoantocianidinas, saponinas, triterpenos e alcaloides.

## REFERÊNCIAS

1. Bovini, M. G.; Carvalho-Okano, R. M. C.; Vieira, M. F. Malvaceae A. Juss. no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* **2001**, 52, 81, 17.
2. Forza, R.C. et al. Catálogo de plantas e fungos do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânica do Rio de Janeiro 2010, 879. v.2.
3. Conson, A. R. O.; Ruas, E. A.; Vieira, B. G.; Rodrigues, L. A.; Costa, B. F.; Bianchini, E.; Prioli, A. J.; Ruas, C. F.; Ruas, P. M. Genetic structure of the Atlantic Rainforest tree species *Luehea divaricata* (Malvaceae). *Genetica* **2013**, 141, 205.
4. Felício, L. P.; Silva, E. M.; Ribeiro, V.; Miranda, C. T.; Vieira, I. L. B. F.; Passos, D. C. S.; Ferreira, A. K. S.; Vale, C. R.; Lima, D. C. S.; Carvalho, S.; Nunes, W. B. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. *Genet.Mol. Res.* **2011**, 10, 1, 16.
5. Tanaka, J. C. A.; Silva, C. C.; Dias Filho, B. P.; Nakamura, C. V.; Carvalho, J. E.; Foglio, M. A. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). *Quim. Nova* **2005**, 28, 5, 834.
6. Vargas, V. M. F.; Guidobono, R. R.; Henriques, J. A. P. Genotoxicity of plant extracts. *Mem.Inst. Oswaldo Cruz.* **1991**, 86, 67.
7. Port's, P. S.; Chisté, R. C.; Godoy, H. T.; Prado, M. A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. *Food Res. Int.* **2013**, 53, 875.
8. Alice, C. B.; Vargas, V. M. F.; Silva, G. A. A. B.; Siqueira, N. C. S.; Schapoval, E. E. S.; Gleyed, J.; Henriques, J. A. P.; Henriques, A. T. Screening of plants used in south Brazilian folk medicine. *J. Ethnopharmacol.* **1991**, 35, 165.
9. Bernardi-Wenzel, J.; Garcia, A.; Azevedo, J. L.; Pamphile, J. A. Molecular characterization by amplified ribosomal DNA restriction analysis and antimicrobial potential of endophytic fungi isolated from *Luehea divaricata* (Malvaceae) against plant pathogenic fungi and pathogenic bacteria. *Genet. Mol. Res.* **2013**, 12, 4, 5072.
10. Tanaka, J. C. A.; Vidotti, G. J.; Silva, C. C. A New Tormentic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 3, 475.
11. Souza, G. C.; Haas, A. P. S.; Poser, G. L.; Schapoval, E. E. S.; Elisabetsky, E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, 90, 135.
12. Zacchino, S. Santecchia, C.; Lopez, S.; Cattuso, S.; Mufioz, J.D.; Cruafies, A.; Vivot E.; Cruafies, M. C.; Salinas, A.; Ruiz, R. E.; Ruiz, S. In vitro antifungal evaluation and studies on mode of action of eight selected species from the Argentine flora. *Phytomedicine* **1998**, 5, 5, 389.
13. Specian, V.; Sarragiotto, M. H.; Pamphile, J. A. Clemente, E. Chemical characterization of bioactive compounds from the endophytic fungus *Diaporthe helianthi* isolated from *Luehea divaricate*. *Braz. J. Microbiol.* **2012**, 43, 3, 1174.
14. Matos, F. J. A; Introdução a fitoquímica Experimental. 3.ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

15. Costa, A. C. R.; Silva, A. L. R.; Sousa, C. R.; Freire, F. C. O.; Neto, M. A.; Nascimento, R. R. G.; Menezes, J. E. S. A.; Costa, S. M. O. ; Moraes, S. M. Abordagem Fitoquímica, Ação Inibitória de Acetilcolinesterase e Atividade Nematicida de *Astronium fraxinifolium* Schott. *Quim. Bras.* **2011**, 5, 27.
16. Simões, C. M. O. S. et al. Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. Editora da UFSC e UFRGR Editora, 6 ed., 1º reimpressão, 2010.
17. Fernandes, P. R. D.; Silval, R. C.; Moraes, A. R.; Bizerra, A. M. C. Ensaio fitoquímico em extratos de *Aspidosperma pyrifolium*. In: *LX Congresso de Iniciação Científica do IFRN*. **2013**.
18. Castaneda-Ovando, A.; Pacheco-Hernandez, M. D. L.; Paez-Hernandez, M. E.; Rodriguez, J. A.; Galan-Vidal, C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chemistry*, v. 113, p. 859-871, **2009**.
19. DEWICK, P. M. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. 2a ed. John Wiley & Sons Ltd, p. 212 e 168, **2002**.
20. PATOČKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicine Signification. *Journal of Applied Biomedicine*, v.1, p. 7-12, **2003**.

## Avaliação da toxicidade aguda e subcrônica do extrato etanólico de *Luehea divaricata*

 [10.56238/sevendiefatiamodelodenoqt-003](https://doi.org/10.56238/sevendiefatiamodelodenoqt-003)

### Hébelys Ibiapina da Trindade

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFPI  
Campus Agrícola da Socopo s/n° CEP: 64049-550 –  
Teresina-PI  
E-mail: hebelys@yhao.com.br

### RESUMO

A *L. divaricata* Mart. & Zucc. é planta usada na medicina popular brasileira para diferentes finalidades, dentre elas como anti-inflamatório, antianêmico e diurético. O objetivo deste trabalho foi examinar os possíveis efeitos de toxicidade aguda e subcrônica do extrato bruto etanólico da casca de *L. divaricata* em camundongos e ratos. Na avaliação da toxicidade aguda, foram utilizados dois grupos de camundongos tratados, na dosagem de 300 e 2000 mg/kg, respectivamente. Todos os grupos foram formados por seis animais, sendo três de cada sexo. Na toxicidade subcrônica, foram compostos quatro grupos de ratos: controle, 100, 500 e 1000 mg/kg. Todos os grupos foram constituídos por seis animais, sendo três de cada sexo. Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Não foram observados alterações comportamentais indicativas de toxicidade em nenhum grupo. Quanto a massa corporal e dos órgãos dos animais tratados, não houve diferença significativa dos animais tratados em relação aos animais do grupo controle ( $p < 0,05$ ), e também não houve diferença significativa nos parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos animais tratados em

relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ). Assim, pode-se concluir que o extrato não apresenta manifestações clínicas de toxicidade aguda e toxicidade subcrônica.

**Palavras-chave:** açoita-cavalo, camundongos, ratos.

### ABSTRACT

*L. divaricata* Mart. & Zucc. It is a plant used in Brazilian folk medicine for different purposes, among them as anti-inflammatory, anti-anemic and diuretic. The objective of this study was to examine the possible effects of acute and subchronic crude ethanol extract of *L. divaricata* peel in mice and rats. In the evaluation of acute toxicity, both groups of treated mice were used at a dosage of 300 to 2000 mg/kg, respectively. All groups were formed by six animals, three of each sex. In subchronic toxicity, the compounds were four groups of rats: control, 100, 500 and 1000 mg/kg. All groups consisted of six animals, three of each sex. The results were analyzed by Tukey test ( $p < 0,05$ ). There were no behavioral changes indicative of toxicity in either group. As for body mass and organs of the treated animals, there was no significant difference between the treated animals compared to control animals ( $p < 0,05$ ), and there was also no significant difference in biochemical parameters obtained from the serum of treated animals compared the control group ( $p < 0,05$ ). Therefore, it can be concluded that the extract has no clinical manifestations of acute and subchronic toxicity.

**Keywords:** horse-whips, mice, rats.

## 1 INTRODUÇÃO

A diversidade vegetal do cerrado brasileiro torna possível o encontro de variadas espécies com potencial econômico, para fins medicinais, nutricionais ou até mesmo ornamentais (CUNHA et al., 2013). Segundo Azevedo e Valente (2005), a família Tiliaceae possui cerca de 450 espécies distribuídas em regiões tropicais, sendo que 65 delas são encontradas no Brasil.

A *L. divaricata* Martus & Zucc. (Tiliaceae) é encontrada em vários estados brasileiros, dentre eles o Piauí. É uma planta arbórea, de caráter decíduo que atinge dimensões próximas a 30m de altura, tem rápido crescimento, conhecida popularmente como açoita-cavalo, ibatingui, ivatingui, açoita-cavalo-miúdo, pau-de-canga, caiboati, esteiveira e sua floração varia entre os meses de novembro a julho, de acordo com a região que pertence (LORENZI, 1992; MULLER, 2006; CARVALHO, 2008; FELÍCIO et al., 2011). É usada na medicina popular brasileira para diferentes finalidades: a infusão das folhas e decoto das cascas,

são utilizados como anti-inflamatório, antianêmico, diurético, asséptico bucal, entre outros (PIO CORRÊA, 1984; ALICE et al., 1995). As cascas, folhas e flores são comercializadas em feiras populares com indicação para o combate à disenteria, reumatismo, tumores, feridas, acne, afecções dos aparelhos respiratório e urinário; a infusão das flores é usada no tratamento da bronquite e a raiz é considerada depurativa e anti-inflamatória (TANAKA et al., 2003).

Assim, este trabalho objetivou verificar os possíveis efeitos de toxicidade aguda e subcrônica do extrato bruto etanólico da casca de *L. divaricata* em camundongos Swiss e ratos Wistar.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

As cascas da *L. divaricata* foram coletadas na Comunidade Bebedouro, município de Nazária-PI, em dezembro de 2013 e a excisada da espécie depositada no Herbário Graziela Barroso, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o registro TEPB 30.119. O material vegetal foi desidratado em estufa ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ) por uma semana e depois triturado em moinho de facas até a obtenção do pó. Após a pulverização, foi submetido à extração com etanol por 12 dias a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo posteriormente filtrada em papel de filtro e a solução obtida concentrada em evaporador rotatório a  $40^{\circ}\text{C}$  e depois submetido à liofilização, obtendo-se o extrato bruto etanólico liofilizado.

Para a realização dos experimentos de toxicidade aguda e subcrônica foram utilizados camundongos Swiss (20-25 g) e ratos Wistar (250-300 g) para os testes da toxicidade aguda e subcrônica, respectivamente. Todos os animais foram provenientes do Biotério do Centro de Ciências Agrárias-CCA/UFPI e foram mantidos em gaiolas, em ambiente climatizado ( $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), em ciclo claro-escuro de 12 horas, com comida e água à vontade. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI, com Parecer nº 0106/12.

Para o estudo da toxicidade aguda, foram adotadas metodologias preconizadas pelo Guia OECD 423/2001 "Toxicidade Aguda de Classe" (OECD, 2001). A dose inicial selecionada para o estudo foi de 300 mg/kg, seguindo o protocolo proposto pela OECD para substâncias não testadas ou com histórico de toxicidade desconhecida (OECD, 2001). Como não foi observada morte nesta dose, testou-se a dose mais alta recomendada pelo protocolo, 2000 mg/kg.

Foram utilizados seis camundongos Swiss (machos e fêmeas, três de cada sexo), para cada um dos grupos tratados (300 e 2000 mg/kg, por via oral – v.o., extrato diluído em água destilada) e controle (água destilada 10 mL/kg, v.o.). Após a administração, os animais foram avaliados com 1h, 2h, 4h, 6h e 24h, e depois diariamente, até o 14º dia após o tratamento, para observação do aparecimento dos seguintes sinais: hiperatividade, tremores, convulsão, piloereção, hipnose, sedação, resposta ao toque, reflexo auricular, limpeza, levantar, escalar, vocalizar, força para agarrar, salivação, cianose e morte, seguindo o *screening* hipocrático. Os sinais avaliados na observação comportamental seguiram o protocolo segundo Malone e Robichaud (1962) e Malone (1977). Os animais foram pesados diariamente, durante os 14 dias de

tratamento, para observar alterações de peso e também foram pesadas a ração e quantidade de água ingerida pelos animais.

Para o estudo da toxicidade subcrônica, foram utilizados seis ratos Wistar (machos e fêmeas, três de cada sexo), para cada um dos grupos tratados (100, 500 e 1000 mg/kg, v.o.) e controle (água destilada 10 mL/kg, v.o.). Após a administração, os animais receberam os tratamentos diariamente, durante 30 dias, sendo monitorado o peso corporal de cada animal e sua ingestão alimentar e hídrica, todos os dias.

Ao final do experimento, todos os animais foram anestesiados (xilazina-50 mg/kg e cetamina-10 mg/kg, via intraperitoneal – i.p.), e eutanasiados com tiopental (90 mg/kg, i.p.), seguindo as Diretrizes Brasileiras para Eutanásia de Animais (CONCEA, 2013) e à Resolução de nº 1.000 de 11 de Maio de 2012 (CRMV, 2012). Imediatamente antes do sacrifício foram feitas coletas de sangue sem anticoagulante para obtenção do soro, para fins de dosagem bioquímicas. Estas foram realizadas em aparelho semiautomático (Analisador Bioquímico BA 88 BIOCLIN) com o uso do “kits” Bioclin segundo as recomendações do fabricante, avaliando as concentrações de creatinina, uréia, Transaminase ALT (TGP) e Transaminase AST (TGO). Logo depois, as cavidades abdominal e torácica foram abertas e as observações macroscópicas foram anotadas.

A análise histopatológica foi realizada para toxicidade subcrônica, Fragmentos de fígado, baço e rins foram coletados e fixados em formaldeído a 10%, processados para inclusão em parafina e corados pela técnica de hematoxilina-eosina (HE). Foram analisados os seguintes processos histológicos: alterações celulares, intersticiais, vasculares, inflamatórias e distúrbios no crescimento e diferenciação celulares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2012).

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância a 5% de probabilidade (ANOVA) e quando identificada diferença estatística, foi aplicado o teste de Tukey, também com 5% de probabilidade, utilizando-se o software Graph Pad Prism versão 6.0. Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3 RESULTADO

Não foi observada morte nem qualquer sinal de toxicidade nos animais controle e tratados (com 300 e 2000 mg/kg) durante todo o estudo. Na avaliação até o 14º dia, observou-se um aumento significativo no ganho de peso dos camundongos tratados com o EtOH-Ld em relação ao controle (Figura 1), porém não houve diferença no consumo de alimento e na ingestão de água pelos animais (Figura 2 e 3). No *screening* hipocrático, nenhuma alteração motora e/ou sensorial foi observada.

Figura 1. Média do ganho de peso de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* e observados durante 14 dias. a= $p < 0,05$  vs controle; b= $p < 0,05$  vs 300mg/kg.

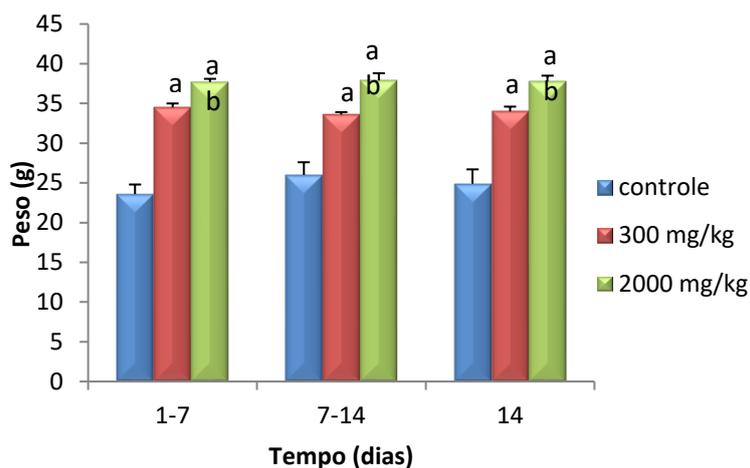


Figura 2. Média do consumo de alimento de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* e observados durante 14 dias.

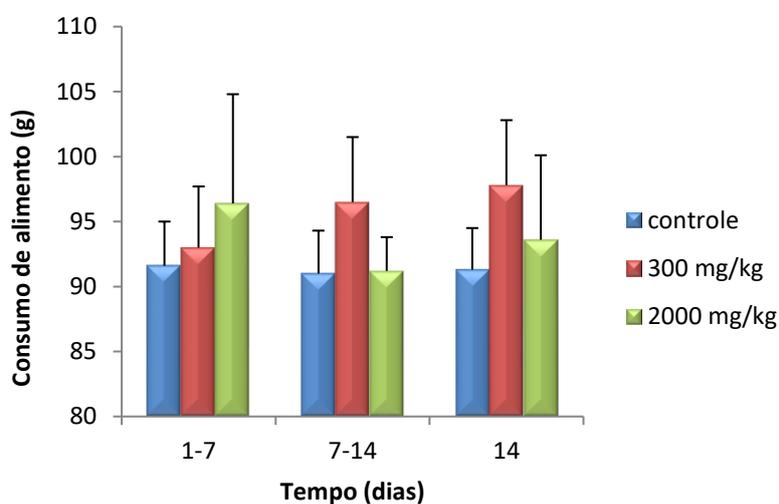
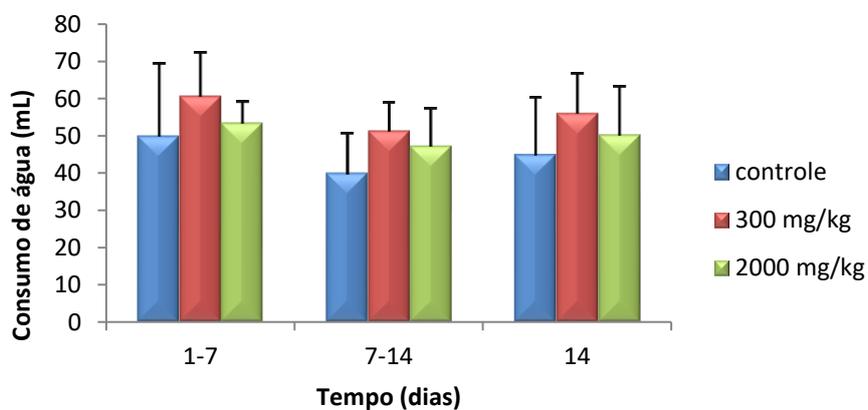


Figura 3. Média da ingestão de água de camundongos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* e observados durante 14 dias.



No ensaio de toxicidade subcrônica em ratos, por 30 dias, os animais tratados apresentaram diferença estatística no ganho de peso em relação aos animais do grupo controle, conforme mostra a Figura 4. A Figura 5 demonstra que a média de consumo de ração pelos animais tratados com EtOH-Ld na dosagem de 500 mg/kg, por 30 dias, apresenta diferença estatística significativa em relação ao controle. Quanto à ingestão de água, houve diferença estatística na média de consumo pelos animais tratados com EtOH-Ld na dosagem de 1000 mg/kg, por 30 dias, em relação ao controle e ao EtOH-Ld com 500 mg/kg (Figura 6).

Figura 4. Média do ganho de peso de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias. a= $p<0,05$  vs controle; b= $p<0,05$  vs 250mg/kg; c=  $p<0,05$  vs 500mg/kg.

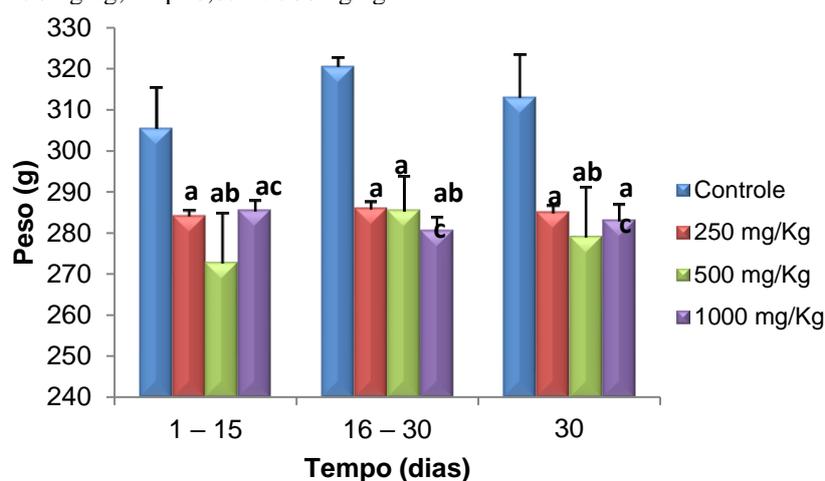


Figura 5. Média do consumo de alimento de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias. a= $p<0,05$  vs controle; b= $p<0,05$  vs 250mg/kg; c=  $p<0,05$  vs 500mg/kg.

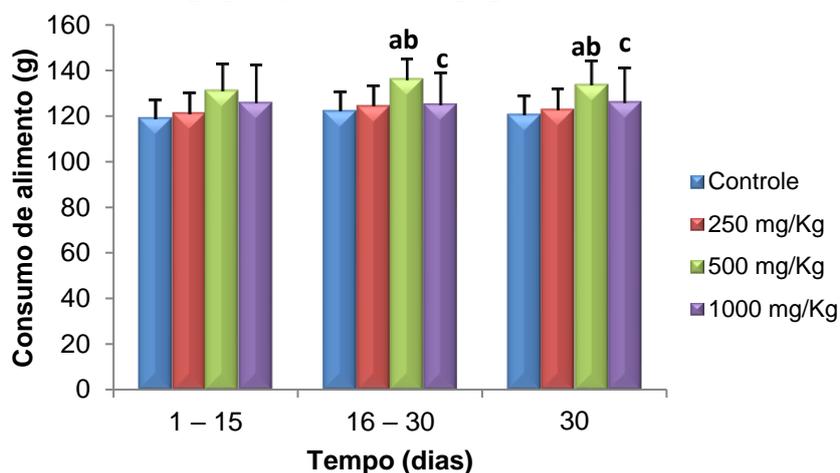
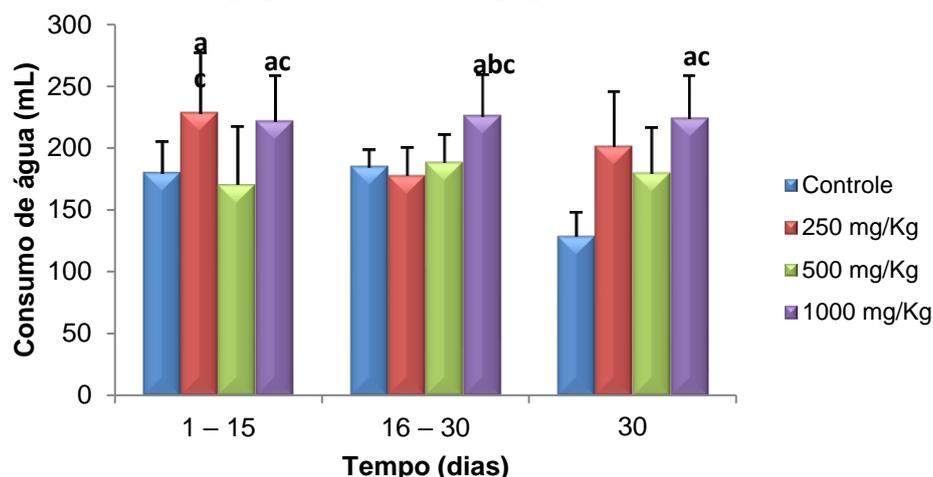


Figura 6. Média da ingestão de água de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias. a=p<0,05 vs controle; b=p<0,05 vs 250mg/kg; c= p<0,05 vs 500mg/kg.



Quanto a massa corporal e dos órgãos, não houve diferença significativa entre os grupos tratados com EtOH-Ld em relação aos animais do grupo controle (Tabela 1). Também não houve diferença estatística nos parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos animais tratados em relação ao grupo controle (Tabela 2).

Tabela 1. Massa corporal e dos órgãos de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias.

Variáveis	Peso (g)			
	Controle	250 mg/Kg	500 mg/Kg	1000 mg/Kg
Fígado	9,31 ± 5,17	9,29 ± 2,34	8,91 ± 2,48	8,76 ± 1,98
Baço	0,91 ± 0,32	0,77 ± 0,18	0,80 ± 0,26	0,78 ± 0,14
Rim direito	1,06 ± 0,31	0,97 ± 0,20	0,89 ± 0,19	0,89 ± 0,18
Rim esquerdo	1,09 ± 0,32	1,01 ± 0,22	0,93 ± 0,23	0,96 ± 0,16

Não houve diferença significativa entre os grupos a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos tratados com o extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* durante 30 dias.

Parâmetros	Tratamento			
	Controle	250 mg/Kg	500 mg/Kg	1000 mg/Kg
TGO/AST	85,29 ± 14,09	75,63 ± 15,95	71,14 ± 23,88	94,5 ± 25,21
TGP/ALT	108,3 ± 28,18	92,5 ± 15,5	83,29 ± 32,63	118,0 ± 24,89
Creatinina	0,68 ± 0,15	0,51 ± 0,16	0,61 ± 0,11	0,50 ± 0,12
Uréia	56,0 ± 10,83	56,38 ± 15,47	55,0 ± 11,24	46,63 ± 16,62

Não houve diferença significativa entre os grupos a 5% de probabilidade.

#### 4 DISCUSSÃO

A avaliação de toxicidade aguda é uma metodologia bastante empregada para verificar e classificar substâncias quanto à capacidade de provocar danos agudos aos organismos vivos, em altas doses, especialmente injúrias anatomopatológicas e letalidade. É um ensaio essencial para o estabelecimento de doses a serem utilizadas em estudos subcrônicos (BIGHETTI et al., 2004). Estudos toxicológicos demonstram que toda substância é um agente tóxico em potencial, dependendo apenas das condições de

exposição, como dose administrada ou absorvida, tempo, frequência e via de administração (VALADARES, 2006; ZATTA et al., 2009; PIRES JÚNIOR et al., 2012).

Na avaliação aguda do EtOH-Ld nas dosagens de 300 e 2000 mg/Kg de peso corporal, por via oral (v.o.), os animais não apresentaram sinais de toxicidade e não houve morte, durante os 14 dias de observação. Não foi observada também nenhuma alteração em relação ao *scrrenning* hipocrático, sendo o comportamento dos grupos tratados semelhante ao do grupo controle.

Esses dados corroboram com o de Bighetti et al. (2004) que utilizaram o extrato bruto da casca da *L. divaricata* na posologia de 5 g/kg e não observaram sinais de toxicidade nos animais, durante os 14 dias de observação.

A toxicidade sistêmica de uma determinada substância pode ser manifestada, também por meio da redução nos consumos de água e ração, alteração comportamental, apatia, má condição de pelagem e alteração na massa relativa dos órgãos. Assim, outro parâmetro utilizado em avaliações toxicológicas é o peso corporal, pois indica o aparecimento de efeitos tóxicos, algumas vezes precoce, de uma determinada substância no organismo animal (PIRES JÚNIOR et al., 2012).

Na avaliação da toxicidade aguda, houve aumento significativo no ganho de peso dos animais tratados em relação ao controle; entretanto não houve diferença significativa no consumo de alimento em relação ao controle (Figura 1 e 2). Na verificação da toxicidade subcrônica também observou-se esse aumento significativo no ganho de peso entre os grupos tratados e controle, e também houve diferença significativa no consumo de ração (Figura 4 e 5).

A ação tóxica de uma substância pode comprometer alguns órgãos, tais como fígado, baço e rins. Pode induzir alterações morfológicas mais ou menos características, sendo o exame histológico um meio complementar muito útil na confirmação diagnóstica (TOKARNIA et al., 2012; TÚRMINA, 2012).

O fígado é bastante suscetível à ação de compostos químicos, pelo fato de substâncias administradas por via oral, sofrerem absorção gastrointestinal e poderem ser transportadas primeiramente para o fígado (veia porta hepática). Assim sendo, um agente tóxico vai primeiramente passar pelo fígado para ser distribuído na corrente sanguínea (TÚRMINA, 2012). A lesão hepática induzida por drogas surge através do dano químico sofrido pelas células do fígado, desencadeando respostas biológicas que podem ser protetoras ou tóxicas (KAPLOWITZ, 2005).

O baço é o maior órgão linfóide do corpo, e apresenta como funções a filtração do sangue, fagocitose de hemácias e micro-organismos invasores do sangue, fornecimento de linfócitos T e B imunocompetentes e produção de anticorpos. O sistema imune é bastante complexo, e por isso a avaliação dos potenciais efeitos imunotóxicos de drogas, produtos químicos e outros agentes não é uma tarefa simples. O sistema imunológico pode estar entre os mais sensíveis à toxicidade de muitos produtos químicos e merece atenção especial. Há evidências de que algumas substâncias podem causar supressão imunológica, agravar a reação alérgica e ter algum envolvimento em doenças autoimunes (ROBERTS; ADAMS, 2000; SELGRADE, 2004; GARTNER; HIATT, 2010).

Os rins funcionam como um depurador sanguíneo, regulam a pressão sanguínea e volume do fluido corporal, além de atuarem no equilíbrio ácido-básico e na formação e liberação de alguns hormônios (GARTNER; HIATT, 2010). Com a produção de urina nos rins, diversos resíduos do metabolismo endógeno são eliminados (RUBIN, 2006). Vários fatores estão envolvidos na sensibilidade renal às substâncias tóxicas, como o fluxo arterial renal e o aumento da concentração de produtos de excreção após a reabsorção de água do líquido tubular. Os rins recebem cerca de 25% do débito cardíaco, e com isso, quantidades significativas de produtos químicos exógenos e/ou os seus metabólitos passam por ele. Além disso, os rins concentram o líquido tubular e, como consequência, após a remoção de água e sais, concentram todos os produtos químicos nele contidos. Assim, uma concentração não tóxica no plasma pode ser convertida para uma tóxica no fluido tubular (MIDDENDORF; WILLIAMS, 2000; HODGSON; LEVI, 2004).

Não foram observadas alterações macroscópicas e também não houve diferença estatística quanto ao peso de órgãos: fígado, baço e rins, entre os grupos controle e tratados, tanto para machos como para fêmeas. No entanto, os animais dos grupos tratados com o extrato em todas as concentrações e também os pertencentes ao controle negativo (água destilada) apresentaram, no exame histopatológico, um certo grau de congestão, hiperemia e degeneração hepática. Esses danos observados podem ter alguma relação com as condições alimentares ou alguma manifestação de estresse sofrida por parte dos animais, visto que todos eles (tratados e não tratados) expressaram essa característica. Além do mais, a não ocorrência de alterações nos testes bioquímicos realizados, somado à inexistência de alterações comportamentais indicativas de toxicidade, corroboram para se considerar o extrato como destituído de toxicidade.

## 5 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o extrato bruto da *L. divaricata* não apresenta manifestações clínicas de toxicidade aguda e toxicidade subcrônica, levando-se em consideração a inexistência de diferenças comportamentais entre os grupos, a ausência de alterações no perfil bioquímico e não ter havido morte.

### Apoio financeiro

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

UFPI – Universidade Federal do Piauí

## REFERÊNCIAS

- ALICE, C. B.; SIQUEIRA, N. C. S. da; MENTEZ, L. A.; SILVA, G. A. de A. B. e; JOSÉ, K. F. D. *Plantas medicinais de uso popular*. Atlas Farmacognostico. Canoas: Editora da ULBRA/RS, 1995.
- AZEVEDO, M. A. M.; VALENTE, M. C. Tiliaceae da mata de encosta do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e arredores, Rio de Janeiro, RJ. *Arquivos do Museu Nacional*, v.63, n.4, p.631-637, 2005.
- BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; POSSENTI, A.; FOGGIO, M. A.; SIQUEIRA, M. G.; CARVALHO, J. E. Efeitos da administração aguda e subcrônica da *Luehea divaricata* Martus et Zuccarini. *Lecta*, v.22, n.1/2, p.53-58, 2004.
- CONCEA. Conselho Nacional de Controle em Experimentação Animal. 2013. Disponível em:< [http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.cobea.org.br%2Farquivo%2Fdownload%3FID\\_ARQUIVO%3D36&ei=D7nYVNYHIMqYNr6PhIge&usq=AFQjCNHF54erCn0lpsCoKCnSUUmIX9tuKQ](http://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CB0QFjAA&url=http%3A%2F%2Fwww.cobea.org.br%2Farquivo%2Fdownload%3FID_ARQUIVO%3D36&ei=D7nYVNYHIMqYNr6PhIge&usq=AFQjCNHF54erCn0lpsCoKCnSUUmIX9tuKQ)> Acesso em: 21 jan. 2014.
- CRMV. Conselho Regional de Medicina Veterinária. 2012. Disponível em: < <https://www.puc-campinas.edu.br/midia/arquivos/2012/nov/ceua---res-cfmv-no-1000-de-11-de-maio-de-2012.pdf>> Acesso em: 21 jan. 2014.
- CARVALHO, P. E. R. *Espécies arbóreas brasileiras*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v. 1. 2008.
- CUNHA, L. C.; MELO, D. F. A.; PEREIRA, M. E.; MELO, D. S.; PARENTE, L. L.; SILVA, M. A. C.; CONCEIÇÃO, E. C.; GONZAGA, L. Q. S. Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v.34, n.3, p.357-362, 2013.
- FELÍCIO, L. P.; SILVA, E. M.; RIBEIRO, V.; MIRANDA, C. T.; VIEIRA, I. L. B. F.; PASSOS, D. C. S.; FERREIRA, A. K. S.; VALE, C. R.; LIMA, D. C. S.; CARVALHO, S.; NUNES, W. B. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. *Genetics and Molecular Research*, v.10, n.1, p.16-24, 2011.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Atlas colorido de histologia*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.
- HODGSON, E.; LEVI, P. E. Nephrotoxicity. In: \_\_\_\_\_ *A Textbook of Modern Toxicology*. E. Hodgson (Ed). John Wiley and Sons, INC, New Jersey, 2004. p. 273-278.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- KAPLOWITZ, N. Idiosyncratic drug hepatotoxicity. *Nature Reviews Drug Discovery*. Vol. 6, p. 489-499, 2005.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum. 1992.
- MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product, screening and evaluation. In: Wagner H.; Wolf P. (Eds), *Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*. Springer-Verlag, Berlin, 1977. p.23-53.

- MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A hippocratic screening for pure or drug materials. *Lloydia*, v.25, p.23-53, 1962.
- MIDDENDORF, P. J.; WILLIAMS, P. L. Nephrotoxicity: Toxic responses of the kidney. In: Williams, P. L.; James, R.C.; Roberts, S.M.. *Principles of Toxicology - Environmental and Industrial Applications*. (Eds). John Willey & Sons, INC. New York, 2000. p. 129-143.
- MULLER, J. B. *Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da Luehea divaricata Martius*. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, RS, 2006.
- OECD - *Organization for Economic Co-operation and Development*. Guideline 423: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. OECD, Paris, 2001. 14p.
- PIO CORRÊA, M. P. *Dicionário das plantas uteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Desenvolvimento Florestal. Ministério da Agricultura, 1984.
- PIRES JÚNIOR, H. B.; BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D.; CUNHA, L. C.; LINO JÚNIOR, R. S.; MELO, D. F. A.; PEREIRA, M. E. Avaliação da toxicidade aguda do extrato hexânico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) em camundongos. *Ciência Animal Brasileira*, v.13, n.4, p.512-519, 2012.
- ROBERTS, S. M.; ADAMS, L. Immunotoxicity: Toxic Effects on the Immune System. In: Williams, P. L.; James, R.C.; Roberts, S.M. *Principles of Toxicology - Environmental and Industrial Applications*. (Eds.). John Willey & Sons, INC, New York, 2000. pp: 189-206.
- RUBIN, E. *Patologia - Bases Clinicopatológicas da Medicina*. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2006. 1625 p.
- SELGRADE, M. K. Immunotoxicity. In: Hodgson, E. *A Textbook of Modern Toxicology*. (Ed). John Wiley and Sons, INC. New Jersey, 2004. p: 327-342.
- TANAKA, J. C. A.; VIDOTTI, G. J.; SILVA, C. C. A New Tormentic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.14, n.3, p.475-478. 2003.
- TOKARNIA, C. H., BRITO, M. F., BARBOSA, J. D., PEIXOTO, P. V., DÖBEREINER J. *Plantas Tóxicas do Brasil*. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro. 2012. 586p.
- TÚRMINA, J. A. *Avaliação da toxicidade subcrônica in vivo do exopolissacarídeo produzido pelo fungo Lasiodiplodia theobromae MMPI*. 2012. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste em associação ampla com a Universidade Estadual de Ponta Grossa, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.
- VALADARES, M. C. Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias Após a “Era do Teste DL50”. *Revista Eletrônica de Farmacologia*, v. 3, p. 93-98, 2006.
- ZATTA, D. T.; PIMENTA, F. C.; TRESVENZOL, L. M. F.; FIUZA, T. S.; BARA, M. T. F.; CUNHA, L. C.; PUCCI, L. L.; GARROTE, C. F. D.; OLIVEIRA, F. N. M.; PAULA, J. R. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. *Latin American Journal of Pharmacy*, v.28, p.485-489, 2009.

## Avaliação da atividade antinociceptiva das frações acetato e aquosa do extrato etanólico de *Luehea divaricata* Mart. & Zucc.

Crossref  10.56238/sevenediefatiamodelodenoqt-004

### Hébelys Ibiapina da Trindade

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFPI  
Campus Agrícola da Socopo s/n° CEP: 64049-550 –  
Teresina, PI  
E-mail: hebelys@yahoo.com.br

### RESUMO

A planta *L. divaricata* Mart. & Zucc., conhecida como açoita-cavalo, é usada popularmente como agente dotado de várias propriedades, incluindo a atividade analgésica e a anti-inflamatória. Considerando-se os seus usos etnofarmacológicos, realizou-se este estudo com o objetivo de avaliar a atividade antinociceptiva do extrato etanólico fracionado de suas cascas (EtOH-Ld), em modelo animal, nas dosagens de 100 e 200 mg/kg, por via oral, através dos testes de formalina e placa quente. Utilizaram-se camundongos Swiss machos, divididos em seis grupos de seis animais, totalizando 36 animais em cada tratamento. Os resultados foram analisados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para verificar quais os tratamentos que diferiram entre si. O EtOH-Ld, nas diferentes doses estudadas, apresentou baixa atividade antinociceptiva sobre a dor induzida quimicamente por formalina na fração acetato, enquanto que a fração aquosa apresentou uma melhor atividade antinociceptiva na dosagem 200 mg/kg, no mesmo teste. No teste da placa quente, a fração aquosa, na dosagem de 200 mg/kg, evidenciou ação analgésica central, aos 120

minutos de observação. Assim, considera-se que a fração aquosa, na posologia de 200 mg/kg, apresenta ação analgésica mais efetiva.

**Palavras-chave:** açoita-cavalo, analgésico, planta medicinal.

### ABSTRACT

The plant *L. divaricata* Mart. & Zucc., known as whips, horse, is popularly used as an agent endowed with various properties including analgesic activity and anti-inflammatory. Considering their ethnopharmacological uses, took place this study in order to evaluate the antinociceptive activity of the ethanol extract fractional their shells (EtOH-Ld) in an animal model, the dosages of 100 and 200 mg/kg, via oral, the formalin test and hot plate being made. Were used male Swiss mice were divided into six groups of six animals, totaling 36 rats in each treatment. The results were analyzed by Tukey test ( $p < 0,05$ ) to determine which treatments differed. EtOH-Ld in different doses studied was low antinociceptive activity on pain induced by formalin in chemically acetate fraction, while the aqueous fraction had better the antinociceptive effect at a dose 200 mg/kg in the same test. In the hot plate test, the aqueous fraction, at a dose of 200 mg/kg showed a central analgesic action, at 120 minutes of observation. Thus, it is considered that the aqueous fraction, at a dose of 200 mg/kg, provides more effective analgesic action.

**Keywords:** whips-horse, analgesic, medicinal plant.

## 1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização, os seres humanos perceberam os efeitos curativos das plantas medicinais, observando que preparados na forma de pó, chá, banho e outros, proporcionava a recuperação da saúde (BORBA; MACEDO, 2006).

No Brasil, um dos fatores que contribuem para a larga utilização de plantas para fins medicinais é o grande número de espécies vegetais encontradas no País, o que favorece a descoberta de novas substâncias que possam integrar o mercado farmacêutico (BORBA; MACEDO, 2006; FELÍCIO et al., 2011).

A dor é uma das principais causas da procura por tratamento. A necessidade de se controlar a dor no homem e nos animais deve-se ao fato de ser este o primeiro sinal clínico quando inicia alguma doença (TRINDADE et al., 2013). O conhecimento sobre a dor é essencial para a instituição de uma terapia

analgésica eficiente, preemptiva e multimodal, pois a síndrome dolorosa pode gerar alterações na homeostasia orgânica, implicando em perda na qualidade de vida do paciente (KLAUMANN et al., 2008).

Sabe-se que há milhares de anos, as plantas medicinais são utilizadas para tratamento de alguma patologia. Aproximadamente 80% da população mundial faz uso de algum tipo de planta procurando aliviar uma sintomatologia dolorosa ou desagradável (ROCHA; ROCHA, 2006).

Entre as espécies vegetais presentes no território nacional, ressalta-se a *L. divaricata*, conhecida popularmente como açoita-cavalo, açoita-cavalo-miúdo, ibatingui, ivatingui, pau-de-canga e caiboti; pertencente à família Tiliaceae e incluída na ordem Malvales. Ocorre no Piauí, Sul da Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul até o Rio Grande do Sul, e também na Argentina, Uruguai e Paraguai (LORENZI, 1992; CARVALHO, 2008).

Esta planta possui diversos usos etnofarmacêuticos, na forma de infusão de folhas e decoto das cascas, como anti-inflamatório, antianêmico, diurético, antisséptico bucal, dentre outros. As cascas são utilizadas como antidiarreico, adstringente, antipirético, antitumoral e antianêmico. As folhas, cascas e flores são indicadas na cicatrização de feridas, como diurético, antiartrítico, antileucorreico, tônico e em lavagem vaginal e afecções do aparelho respiratório (TANAKA et al., 2003; TANAKA et al., 2005; MULLER, 2006).

Considerando a ampla distribuição desta planta e seu diversificado uso popular, este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antinociceptiva das frações aquosa e acetato, obtidas do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata*, nos testes da formalina e placa quente.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

**Preparação do extrato:** As cascas da planta *L. divaricata* (açoita-cavalo) foram coletadas na Comunidade Bebedouro, município de Nazária-PI, em dezembro de 2013. Uma exsicata foi identificada no Herbário Graziela Barroso, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o registro TEPB 30.119. O material foi desidratado em estufa ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ) por uma semana e depois triturado em moinho de facas até a obtenção do pó. Após a pulverização, foi submetido à extração com etanol por 12 dias a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo posteriormente filtrada (papel de filtro). A solução obtida foi concentrada em evaporador rotativo a  $40^{\circ}\text{C}$ , submetida à liofilização e em seguida foi fracionada obtendo-se as frações acetato e aquosa.

**Animais:** Foram utilizados camundongos Swiss (20-25 g) machos para os testes da formalina e placa quente. Todos os animais foram cedidos pelo Biotério do Centro de Ciências Agrárias-CCA/UFPI e foram mantidos em gaiolas, à temperatura ambiente ( $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), em ciclo claro-escuro de 12 horas, com comida e

água à vontade. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI, com Parecer nº 0106/12.

**Teste da formalina:** Foram utilizados 36 camundongos divididos em seis grupos de seis animais, os quais receberam por via oral (v.o.) as frações acetato e aquosa do EtOH-Ld (100 e 200 mg/kg). O controle negativo recebeu água destilada (10 mL/kg) e o controle positivo recebeu morfina, 7,5 mg/kg por via intraperitoneal (i.p.). Uma hora depois dos tratamentos foi administrado intraplantarmente, na superfície ventral do membro pélvico direito (pata traseira), 20 µL de uma solução de formalina 2,5% v/v. O tempo durante o qual o animal lambeu, sacodiou ou mordeu a pata injetada com formalina foi cronometrado em duas fases, de 0-5 minutos e de 15-30 minutos após a aplicação da formalina, pois este comportamento é um indicativo de dor (SILVA et al., 2013). A primeira fase do teste, que ocorre de 0-5 minutos após a injeção de formalina, é chamada de neurogênica e decorre a ativação direta dos nociceptores locais pela formalina (MARTINS et al., 2006). A segunda fase ocorre entre 15-30 minutos após a formalina e é chamada de fase inflamatória, pois é resultante da ação de mediadores inflamatórios liberados pelo estímulo nociceptivo (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

A percentagem de inibição do tempo que o animal lambeu, sacodiou ou mordeu a pata injetada com formalina foi calculada de acordo com a fórmula: %inibição =  $100 - (100 \times Tt/Tc)$ , onde Tt representa a média do tempo que o animal passa lambendo, sacodindo ou mordendo a pata com formalina no grupo tratado e Tc representa essa média no grupo controle, de acordo com Batista (2013).

**Placa quente (hot plate):** Foram utilizados 36 camundongos divididos em seis grupos, havendo seis animais em cada grupo. Cada camundongo foi colocado individualmente sobre a placa de metal previamente aquecida a  $55 \pm 1^\circ\text{C}$  do aparelho hot plate (Insight Equipamentos Ltda – EPP). Registrou-se o tempo necessário para que os animais apresentassem o reflexo de lambeu, morder ou levantar as patas sobre a placa (tempo de latência para a resposta nociceptiva). Os registros foram realizadas a cada 30 minutos, iniciando no momento da administração do extrato (Tempo 0) e terminando 120 minutos após administração da fração acetato e da fração aquosa do EtoH-Ld (ambas 100 e 200 mg/kg, v.o.), controle positivo (morfina, 7,5 mg/Kg, i.p.) e controle negativo (água destilada, 10 mL/kg, v.o.). O tempo de reação do animal foi registrado com um cronômetro e o tempo máximo de permanência do animal sobre a placa foi de 30 segundos, para evitar danos teciduais nas patas (D'AMOUR; SMITH, 1941).

**Análise estatística:** Os dados foram analisados estatisticamente pela análise de variância a 5% de probabilidade (ANOVA) e quando foi identificada diferença estatística, foram aplicados os teste de Tukey,

também com 5% de probabilidade, utilizando-se o software Graph Pad Prism versão 6.0. Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Utiliza-se o teste de formalina para mensurar a efetividade comportamental de agentes antinociceptivos, visto que este apresenta como vantagem, a possibilidade de avaliar dois tipos diferentes de dor ao longo de um período prolongado de tempo, ou seja, permite avaliar agentes antinociceptivos com diferentes mecanismos de ação (SILVA, 2013).

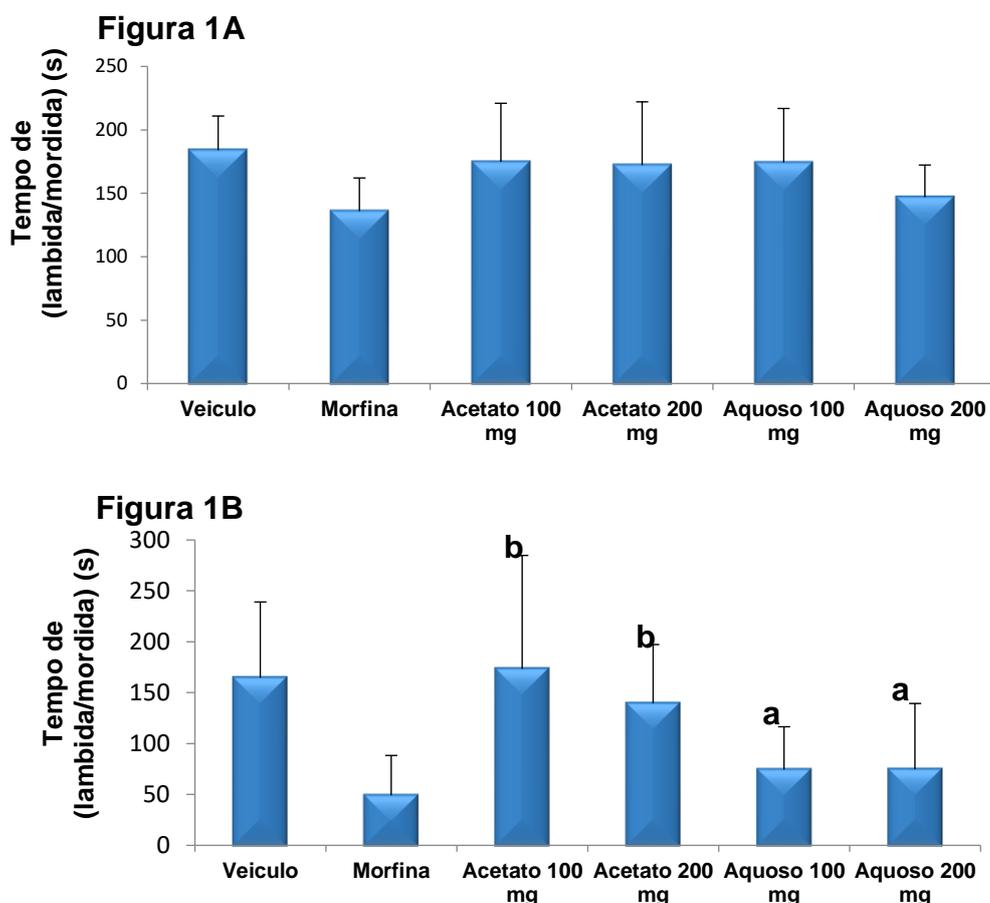
Com o modelo da formalina sub plantar, conhecido como modelo persistente de dor, pode-se evidenciar as duas fases de sensibilidade dolorosa. A primeira fase (1ª fase) que começa imediatamente após a injeção e perdura por cerca de cinco minutos (0-5 minutos) é de caráter neurogênico, sendo sensível a fármacos de ação central como os analgésicos opióides. Esta fase é considerada de dor aguda e tônica, possivelmente envolvendo participação de substância P e bradicinina e justificada pela ativação das fibras A $\delta$  e C, com participação de canais de Na<sup>+</sup> (BLACKBURN-MUNRO et al., 2002). Em sequência, acontece um período de quiescência, de cerca de 5-10 minutos, após o qual se desenvolve a 2ª fase da resposta, que se inicia 15-30 minutos após a injeção e é acompanhada de uma resposta inflamatória, relacionada à liberação de mediadores inflamatórios, como bradicinina, histamina, aminoácidos excitatórios, prostaglandinas e serotonina, sendo sensível a analgésicos anti-inflamatórios não esteroidais (HUNSKAAR; HOLE, 1987; PERAZA et al., 2007).

Os nociceptores, durante o teste, podem ser ativados frente a diversos estímulos, bem como ter seu limiar para ativação reduzido (sensibilização), como o que ocorre durante a segunda fase do teste (inflamação) onde se tem a liberação de vários mediadores químicos que contribuem para a queda do limiar de ativação destes receptores e aumento da resposta nociceptiva. Esses nociceptores designados silenciosos, quando influenciados por mediadores inflamatórios, apresentam atividade espontânea ou tornam-se sensibilizados e respondem a estímulos sensoriais que normalmente não responderiam (GARCIA et al., 2012; DE LUCIA et al., 2014).

No teste de formalina, a fração aquosa do EtOH-Ld, na posologia de 100 e 200 mg/kg, apresentou redução significativa no comportamento do animal de lambar, sacudir e morder a pata injetada com formalina na segunda fase (15-30 minutos) do teste, em relação ao controle negativo, o que sugere um efeito antinociceptivo em nível periférico (fase 2). O mesmo acontecendo com o grupo tratado com morfina (Figura 1). Esses dados corroboram com os de Rosa et al. (2014) que, em um estudo com o extrato bruto hidroalcoólico das cascas de *L. divaricata* (CLD) nas dosagens de 100 e 300 mg/kg (v.o.), observaram que

apresentou tanto efeito anti-inflamatório como analgésico nos testes de contorção abdominal, formalina e capsaicina.

Figura 1. Efeito antinociceptivo das frações acetato e aquosa obtida a partir do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata* (EtOH-Ld), administrada por via oral, no teste de formalina. Figura 1A: 1ª fase do teste de formalina. Figura 1B: 2ª fase do teste de formalina. a - quando comparado ao controle; b - quando comparado à morfina.



Já no experimento de Muller (2006) o extrato metanólico bruto das folhas de *L. divaricata* (1000 mg/kg, v.o.), apresentou atividade antinociceptiva, pelo teste de formalina, apenas na fase inflamatória. Porém, Batista (2013) observou que as dosagens de 20, 40, 80 e 160 mg/Kg (v.o.), possuem atividade antinociceptiva, aumentando o limiar da dor induzida quimicamente por injeções intraplantar de formalina, em ambas as fases analisadas.

O teste da placa quente (hot plate) é utilizado para observar a ação analgésica de compostos exercida por mecanismos centrais, semelhantes aos opiáceos (OLIVEIRA et al., 2005). Este teste avalia a nociceção térmica, medindo o tempo de reação (que é o tempo entre a colocação do animal na placa e a manifestação de dor, caracterizada pelo ato de lamber a pata ou saltar) (SANTOS et al., 2011). É considerado um teste sensível a fármacos que atuam em nível supra espinal de modulação da resposta dolorosa (SILVA et al., 2006).

Pelo teste da placa quente (hot plate) foi avaliada a reatividade ao estímulo térmico nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos, tendo sido observado que o tratamento com a fração aquosa do EtOH-Ld (200 mg/kg, v.o.) não diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) do controle positivo ( $p < 0,05$ ), indicando uma atividade

analgésica semelhante a morfina em todos os tempos avaliados, enquanto a fração acetato apresenta inibição da dor apenas no tempo de 120 minutos (Tabela 1).

Tabela 1. Tempo de latência apresentados por camundongos tratados com frações acetato e aquosa obtida a partir do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata*, em distintos esquemas posológicos no teste “hot plate”.

TRATAMENTO	DOSAGEM (mg/Kg)	TEMPO DE LATÊNCIA (s)				
		0 min	30 min	60 min	90 min	120 min
CONTROLE NEGATIVO (V.O.)	-	11,63±3,06	13,25±3,62	13,25±3,95	11,38±3,74	11,37±3,78
CONTROLE POSITIVO (I.P.)	7,5	11,00±3,46	17,13±3,87	23,38±6,84 a	23,50±5,29 a	24,75±7,55 a
ACETATO	100	15,00±1,31 ab	13,75±2,43	14,00± 2,00 b	17,50±5,48	14,75±3,49 b
	200	15,38±4,81 ab	9,50±1,60 a	14,25±5,34 b	19,88±4,48 a	22,13±4,29 a
AQUOSO	100	13,38±5,15 ab	10,00±3,74 a	17,00±3,34	16,75±5,94 d	24,13±4,76 a
	200	18,00±4,54 b	21,25±3,81acd e	22,25±3,33 acd	24,25±3,15 ae	26,75±3,65 a

Foi realizado ANOVA seguido pelo teste T. a - quando difere do controle negativo; b - quando difere do controle positivo; c - quando difere do acetato 100mg/kg; d - quando difere do acetato 200 mg/kg; e - quando difere do aquoso 100mg/kg.

Estes resultados sugerem que a fração aquosa do EtOH-Ld é capaz de inibir a liberação de mediadores pró-inflamatórios como bradicinina, prostaglandinas, serotonina (5-HT) e outros que ocorrem na segunda fase do teste de formalina (MARTINS et al., 2006; SILVA et al., 2013). Estes achados corroboram com os estudos iniciais desta planta (BATISTA, 2013) onde o extrato bruto das folhas de *L. divaricata* (60 mg/kg, v.o.), apresentou efeito antinociceptivo.

Pelo teste da placa quente, a fração aquosa do extrato da planta mostrou uma atividade antinociceptiva estatisticamente semelhante à da morfina em todos os tempos observados. Enquanto que tanto para a dose de 100 mg (fração aquosa), como para a fração acetato, este efeito só foi observado aos 120 minutos (Fig.1A). Sabe-se que estímulos térmicos (acima de 50°C) sensibilizam nociceptores pela ativação dos receptores vanilóides, sobretudo TVR1, o qual se comporta como receptor acoplado a canal iônico que, ativado por estímulos térmicos (dentre outros) despolariza a membrana e sensibiliza as fibras nociceptivas, o que gera sensação de dor (TOMINAGA et al., 1998, GENRO, 2008). Assim, é possível que os receptores TRPV1 possam, também, ter participação no mecanismo de ação da fração aquosa do EtOH-Ld.

#### 4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos conclui-se que o fração aquosa do extrato das cascas de *L. divaricata* na posologia de 200 mg/kg, v.o., apresenta melhor efeito antinociceptivo em camundongos, evidenciados pelos testes de formalina e placa quente.

**Apoio financeiro:**

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

UFPI – Universidade Federal do Piauí

## REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, G.; CHRISTRUP, L.; SJOGREN, P. Relationships among aorphine metabolism, pain and side effects during long-term treatment: an update. **Journal of Pain Symptom Management**, v.25, p.74-91, 2003.
- BATISTA, E. K. F. **Abordagem farmacológica da planta *Luehea divaricata* Martius: avaliação de suas atividades antinociceptiva e anti-inflamatória**. 2013. 70p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí.
- BLACKBURN-MUNRO, G.; IBSEN, N.; ERICHSEN, H. K. A comparison of the anti-nociceptive effects of voltage-activated Na<sup>+</sup> channel blockers in the formalin test. **European Journal of Pharmacology**, v.445, p.231-238, 2002.
- BORBA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.20, n.4, p.771-782, 2006.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v. 1. 2008.
- D'AMOUR, F. E.; SMITH, D. L. A method for determining loss of pain sensation. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.72, p.74-79, 1941.
- DE LUCIA, R.; PLANETA, C. S.; GALLACC, M.; AVELLAR, M. C. W.; OLIVEIRA FILHO, R. M. **Farmacologia Integrada: uso racional de medicamentos**. vol. 2. São Paulo: Clube dos Autores, 2014.
- FELÍCIO, L.P.; SILVA, E.M.; RIBEIRO, V. et al. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. **Genet.Mol. Res**, v.10, n.1, p.16-24, 2011.
- GARCIA, T. A. et al. Influência dos receptores 5-HT<sub>3</sub> no processamento nociceptivo de ratos submetidos ao teste da formalina. **Revista Neurociências**, v.20, n.4, p.527-533, 2012.
- GENRO, B. P. Papel dos receptores VR1 hipocampais sobre a consolidação da memória. Porto Alegre, 2008. 71p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Neurociências). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2008.
- HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v.30, n.1, p.103-14, 1987.
- KLAUMANN, P. R. et al. Pathophysiology of pain. **Archives of Veterinary Science**, v.13, n.1, p.1-12, 2008.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum. 1992.
- MARTINS, M. A. et al. Formalin injection into knee joints of rats: pharmacologic characterization of a deep somatic nociceptive model. **Journal of Pain**, v.7, n.2, p.100-107, 2006.

- MCDUGALL, J. J. Peripheral analgesia: hitting pain where it hurts. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1812, p.459-467, 2011.
- MULLER, J. B. **Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e antinociceptiva das folhas da *Luehea divaricata* Martius**. 2006. 100p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria.
- OLIVEIRA, R. B. et al. Avaliação das atividades anti-inflamatória e analgésica de extrato de *Synadenium umbellatum*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p.137-139, 2005.
- PERAZA, G. G. et al. O uso de modelos animais para avaliar o potencial antinociceptivo dos produtos de origem animal. **VITTALLE – Revista de Ciências da Saúde**, v.19, n.1; p.35-44, 2007.
- ROCHA, G. M.; ROCHA, M. E. N. Uso popular de plantas medicinais. **Saúde e Ambiente em Revista**, v.1, n.2, p.76-85, 2006.
- ROSA, R. L. et al. Anti-inflammatory, analgesic, and immunostimulatory effects of *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) bark. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.50, n.3, p.599-610, 2014.
- SANTOS et al. Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of methanol extract of *Cariniana rubra* stem bark in animal models. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.83, n.2, p.557-566, 2011.
- SILVA, M. G. et al. Investigação do efeito analgésico central e antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.24, n.4, p.533-537, 2005.
- SILVA, A. B. L. et al. Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da *Hyptis fruticosa* Salmz. ex Benth. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.475-479, 2006.
- SILVA, J. C. **Efeito antinociceptivo e anti-inflamatório de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) em roedores**. 2013. 183p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais do Semiárido Universidade Federal do Vale do São Francisco, Universidade Federal do Vale do São Francisco.
- SILVA, J. C. et al. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.1, p.18-23, 2013.
- TANAKA, J. C. A. et al. A New Tormentonic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.14, n.3, p.475-478. 2003.
- TANAKA, J. C. A., et al. Constituintes químicos de *Luehea divaricata* MART. (Tiliaceae). **Química Nova**, v.28, p.834-837, 2005.
- TOMINAGA, M.; CATERINA, M. J.; MALMBERG, A. B.; ROSEN, T. A.; GILBERT, H.; SKINNER, K.; RAUMANN, B. E.; BASBAUM, A. I.; JULIUS, D. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. **Neuro**, v.21, n.3, p.531-543, 1998.

TRINDADE, H. I. et al. Dor: mecanismos envolvidos na sua transmissão e recursos terapêuticos aplicados à sua inibição. **Medicina Veterinária**, v.7, n.4, p.6-18, 2013.

# Avaliação da participação dos sistemas serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico na possível atividade antinociceptiva da fração aquosa do extrato etanólico de *Luehea divaricata* em camundongos

## Hébelys Ibiapina da Trindade

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – UFPI  
Campus Agrícola da Socopo s/n° CEP: 64049-550 –  
Teresina, PI  
E-mail: hebelys@yahoo.com.br

## RESUMO

A dor é o primeiro indicativo de uma lesão tecidual e diferentes formas de terapia são usadas para aliviá-la, entre elas, o uso de plantas consideradas medicinais. A *L. divaricata* Martius, conhecida como açoita-cavalo, é usada na medicina popular brasileira para diferentes finalidades, dentre elas, para produzir efeito antinociceptivo. Este estudo teve como objetivo avaliar os possíveis mecanismos de ação envolvidos na antinocicepção produzidas pela fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata*, através do teste de formalina em camundongos. Utilizaram-se camundongos Swiss machos, divididos em grupos de seis animais. Os dados foram analisados pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). A fração aquosa do EtOH-Ld, na dosagem de 200 mg/kg, apresentou efeito,

possivelmente decorrente de ação via sistema colinérgico.

**Palavras-chave:** dor, açoita-cavalo, analgésico.

## ABSTRACT

Pain is the first indication of tissue damage and various forms of therapy are used to relieve it, including the use of medicinal plants considered. *L. divaricata* Martius, known as whips ponytail, is used in Brazilian folk medicine for different purposes, among them, to produce analgesic effect. This study aimed to evaluate the possible mechanisms involved in antinociception produced by aqueous fraction of the ethanol extract of the bark of *L. divaricata*, through the formalin test in mice. Were used male Swiss mice were divided into groups of six animals. Data were analyzed by test Tukey ( $p < 0,05$ ). The aqueous fraction of EtOH-Ld at a dose of 200 mg/kg, had an effect, possibly due to action via cholinergic system.

**Keywords:** pain, whips-horse, analgesic.

## 1 INTRODUÇÃO

A sensação de dor é de fundamental importância para a sobrevivência, pois a dor é o primeiro indicador de lesão tecidual. Qualquer estímulo que resulta em lesão ou ferimento conduz a uma sensação de dor, dentre eles o calor, o frio, a pressão, a corrente elétrica, os irritantes químicos e até mesmo os movimentos bruscos. Diferente de outros sistemas sensoriais, o sistema relacionado à nocicepção é extremamente amplo, podendo ser iniciada em qualquer parte do corpo (Silva e Ribeiro-Filho, 2011).

O homem tem utilizado diferentes formas de terapia para aliviar a dor; entre elas, o uso de plantas. Neste sentido, a investigação farmacológica e fitoquímica das plantas presentes nos biomas brasileiros pode ser uma alternativa, uma vez que este território possui cerca de 55000 espécies em sua vegetação. Com o progresso ocorrido nos últimos anos no desenvolvimento de terapias, ainda são necessários potentes e eficazes analgésicos, especialmente para tratar dores crônicas. Faz-se necessário, portanto pesquisa que visem o desenvolvimento destes analgésicos que além de alta eficácia produzam efeitos colaterais menores do que os já existentes (Rodrigues *et al.*, 2010).

A *L. divaricata* Martius é uma espécie pertencente à ordem Malvales, da família Tiliaceae, conhecida popularmente como açoita-cavalo, ibatingui, ivatingui, açoita-cavalo-miúdo, pau-de-canga, caiboati e esteiveira, que vem despertando interesse científico (Carvalho, 2008; Felício *et al.*, 2011). É encontrada nos Estados do Piauí, Bahia, Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do

Sul, Rio Grande do Sul, e também em outros países sul-americanos como: Argentina, Uruguai e Paraguai (Carvalho, 2006; Carvalho, 2008).

Usada na medicina popular brasileira para diferentes finalidades: a infusão das folhas e decoto das cascas, como anti-inflamatório, antianêmico, diurético, asséptico bucal, entre outros (Pio Corrêa, 1984; Alice *et al.*, 1995); as cascas, folhas e flores são comercializadas em feiras populares com indicação para o combate a disenteria, reumatismo, tumores, cicatrizante de pele, combate a acne, afecções do aparelho respiratório e urinário; a infusão das flores é usada no tratamento da bronquite e a raiz é considerada depurativa e anti-inflamatória (Tanaka *et al.*, 2003).

Considerando o amplo uso popular desta planta e a comprovação da atividade antinociceptiva da fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata*, este trabalho teve como objetivo investigar a possível participação dos sistemas serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico, através do teste de formalina em camundongos.

## 2 MATERIAL E MÉTODO

As cascas da planta *L. divaricata* (açoita-cavalo) foram coletadas na Comunidade Bebedouro, município de Nazária-PI, dezembro de 2013. A exsicata foi identificada no Herbário Graziela Barroso, da Universidade Federal do Piauí (UFPI), sob o registro TEPB 30.119. O material vegetal foi desidratado em estufa ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ) por uma semana e triturado em moinho de facas para a obtenção do pó, que foi submetido à extração com etanol por 12 dias a temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo posteriormente filtrada em papel de filtro e a solução obtida concentrada em evaporador rotatório a  $40^{\circ}\text{C}$  e depois submetido à liofilização e fracionamento, obtendo-se a fração aquosa.

Utilizaram-se 84 camundongos Swiss (25-30 g) machos, seis animais em cada protocolo, para avaliar a participação dos sistemas serotoninérgico, colinérgico e dopaminérgico, através do teste de formalina. Todos os animais foram obtidos no Biotério do Centro de Ciências Agrárias-CCA/UFPI e foram mantidos em gaiolas, à temperatura ambiente ( $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), em ciclo claro-escuro de 12 horas, com comida e água à vontade. O protocolo experimental foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI, com Parecer nº 0106/12.

O teste de formalina consiste na injeção de formalina 20  $\mu\text{l}$  de solução 2,5% v/v na região plantar da pata posterior direita do animal. Logo após a aplicação os animais foram colocados individualmente, dentro de uma caixa transparente, a fim de facilitar a observação. Foi registrado o tempo transcorrido (em segundos) que o animal lambe, sacode ou morde a pata durante a fase inicial (0 – 5 min) e tardia (15 – 30 min).

Em um primeiro momento, visando investigar o envolvimento da serotonina no efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do EtOH-Ld, os animais foram pré-tratados com p-clorofenilalanina (PCPA, 100 mg/kg, via intraperitoneal - i.p.), inibidor da síntese de serotonina, uma vez ao dia durante quatro dias consecutivos). Transcorridos 30 min após o último tratamento, os animais pré-

tratados com PCPA receberam a fração aquosa do EtOH-Ld (200mg/kg, via oral - v.o.) ou veículo (10 mL/kg, v.o.), e após 30 min receberam a injeção intraplantar de formalina e foram analisados em relação ao comportamento nociceptivo. Outro grupo de animais foi tratado, durante quatro dias consecutivos, com solução fisiológica (NaCl 0,9%, 10 mL/kg, i.p.) antes da administração da fração aquosa do EtOH-Ld (200mg/kg, v.o.) ou veículo (10 mL/kg, v.o.), e após 30 min foram também analisados quanto à nocicepção induzida pela formalina.

Posteriormente, para avaliar a participação dos receptores serotoninérgicos no efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do EtOH-Ld, três grupos de seis animais foram pré-tratados, por quatro dias consecutivos, com ondasetrona (0,5 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT<sub>3</sub>), cetanserina (1,0 mg/kg, i.p., antagonista 5-HT<sub>2a</sub>) e água destilada (10 mL/kg, v.o.) e no último dia de tratamento, após 30 min da aplicação do protocolo, foram analisados em relação à nocicepção induzida pela formalina.

Com o objetivo de avaliar a participação colinérgica muscarínica sobre a atividade antinociceptiva da fração aquosa do EtOH-Ld, os animais foram pré-tratados com o antagonista colinérgico não seletivo atropina (1,0 mg/kg, i.p.) 15 minutos antes da administração da fração aquosa do EtOH-Ld (200 mg/kg, v.o.), acetilcolina (1,0 mg/kg, i.p.) e veículo (10 mL/kg, v.o.). Decorridos 30 min do tratamento dos animais com a fração aquosa, acetilcolina e veículo, os animais foram analisados em relação à nocicepção induzida pela formalina.

Para a verificação da participação ou não dos receptores dopaminérgicos no efeito antinociceptivo da fração aquosa do EtOH-Ld, os animais foram pré-tratados com haloperidol (0,2 mg/kg, i.p., antagonista não seletivo dos receptores dopaminérgicos) e, após 15 min, receberam a fração aquosa do EtOH-Ld (200 mg/kg, v.o.), apomorfina (1 mg/kg, i.p., agonista dopaminérgico) ou veículo (10 mL/kg, v.o.). Decorridos 30 min, os animais foram analisados em relação à nocicepção induzida pela formalina.

Os dados foram tratados estatisticamente pela análise de variância a 5% de probabilidade (ANOVA) e quando foi identificada diferença estatística, aplicou-se o teste de Tukey, também com 5% de probabilidade, utilizando-se o software Graph Pad Prism versão 6.0. Os resultados obtidos por meio dos testes acima foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

### 3 RESULTADO

De acordo com a Fig. 1 a fração aquosa do extrato etanólico das cascas do EtOH-Ld na dosagem de 200 mg/kg não apresentou efeito antinociceptivo na via serotoninérgica. Na Fig. 2, a via colinérgica apresentou efeito antinociceptivo significativo quando comparado ao controle, e na Fig. 3 essa fração não causou um efeito antinociceptivo nos animais testados pela via dopaminérgica.

Figura 1. Influência do pré-tratamento de camundongos com PCPA (100 mg/kg, i.p., por 4 dias consecutivos, figura 1A e 1B) e antagonistas cetanserina (1 mg/kg, i.p.) e ondansetrona (0,5 mg/kg, i.p.) (figuras 1C e 1D), sobre o efeito antinociceptivo da fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* (200 mg/kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina. Figura 1A e 1C: 1º fase do teste da formalina. Figura 1B e 1D: 2º fase do teste da formalina. Foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo teste T. a – quando comparado ao grupo controle; b – quando comparado ao cetanserina+Fração aquosa.

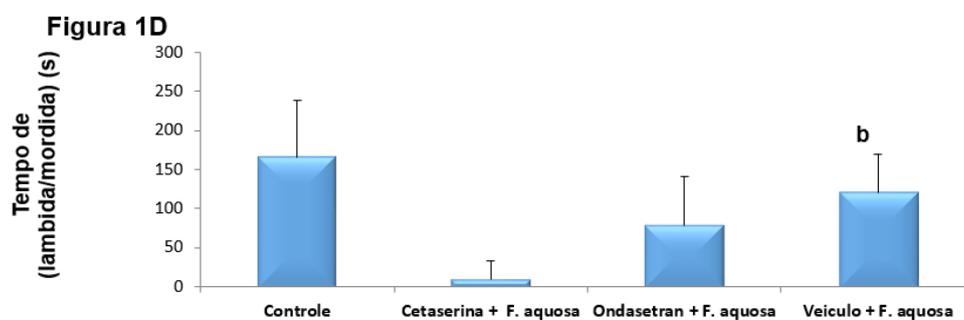
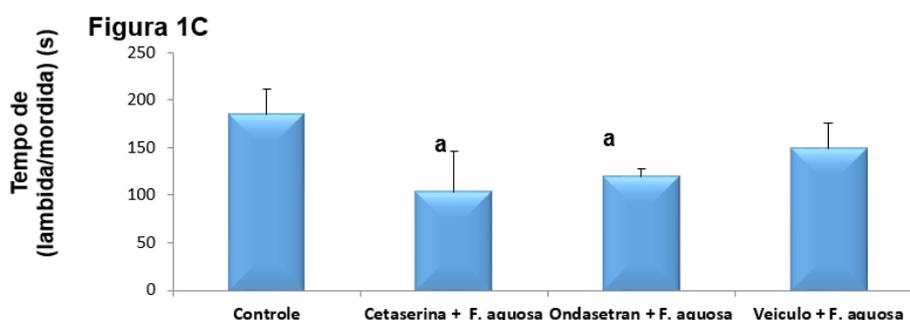
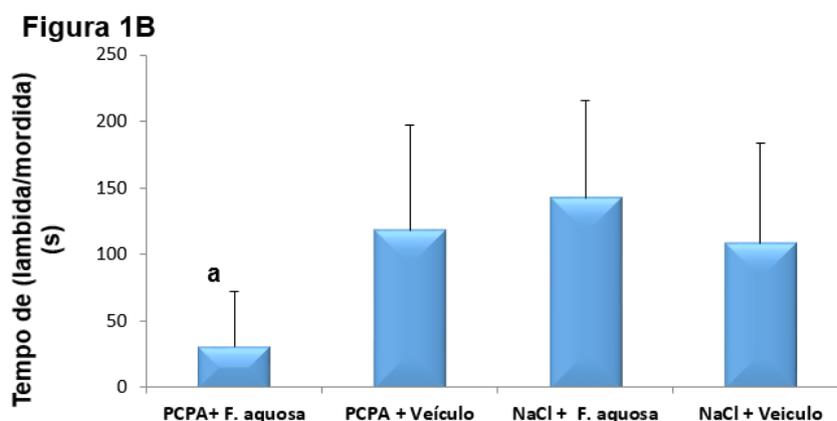
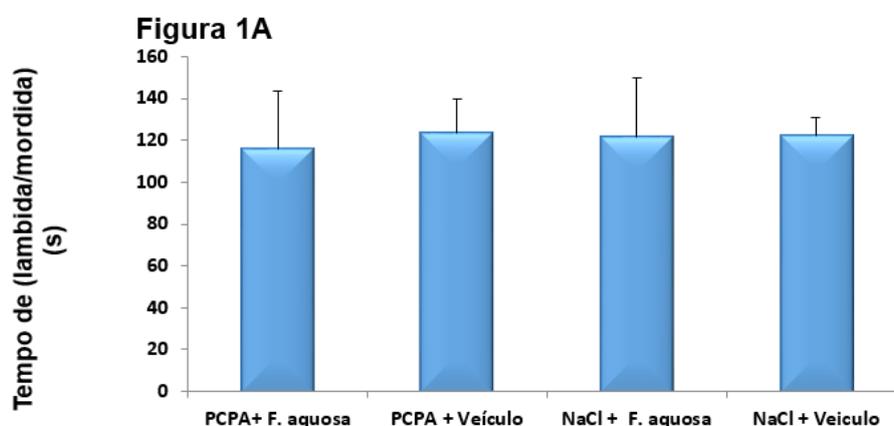


Figura 2. Influência do pré-tratamento de camundongos com Atropina (1,0 mg/Kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *L. divaricata* (200 mg/kg), Acetilcolina (1,0 mg/kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina. Figura 2A: 1º fase do teste da formalina. Figura 2B: 2º fase do teste da formalina. Foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo teste T.

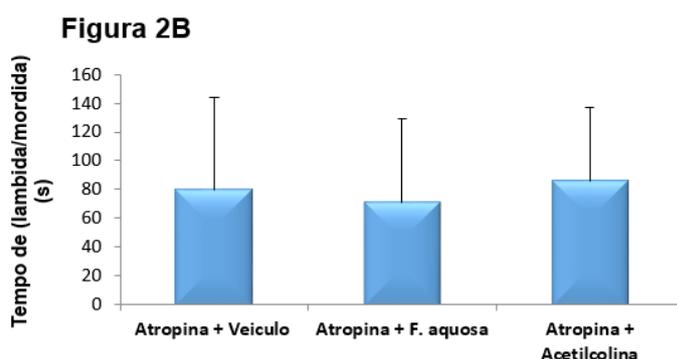
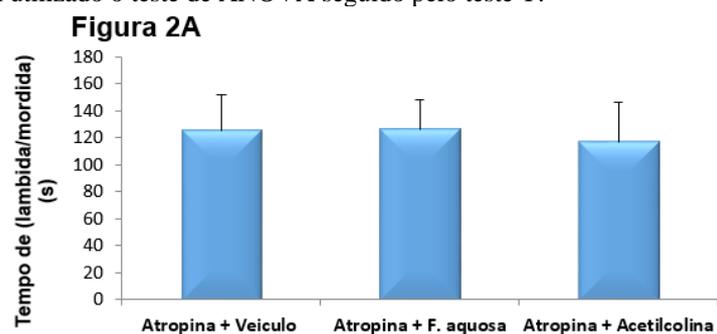
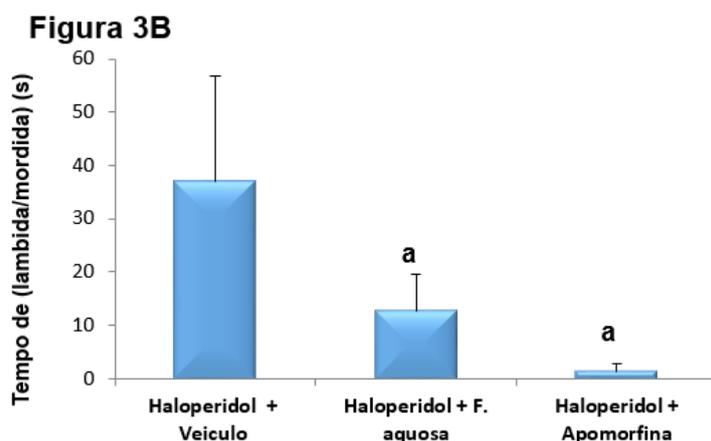
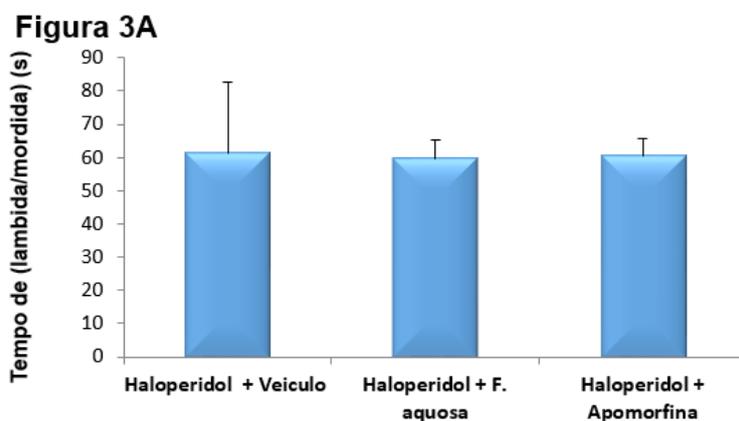


Figura 3. Influência do pré-tratamento de camundongos com Haloperidol (0,2 mg/Kg, i.p.) sobre o efeito antinociceptivo causado pela fração aquosa do extrato etanólico das cascas de *Luehea divaricata* (200 mg/kg), Apomorfina (1,0 mg/kg) e veículo (10 mL/kg) em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina. Figura 3A: 1º fase do teste da formalina. Figura 3B: 2º fase do teste da formalina. Foi utilizado o teste de ANOVA seguido pelo teste T. a – quando comparado ao grupo haloperidol+veículo.



#### 4 DISCUSSÃO

O teste de formalina tem vantagens sobre outros métodos de nocicepção a possibilidade de avaliar dois tipos diferentes de dor ao longo de um período prolongado de tempo, permitindo o teste com diferentes mecanismos de ação (Randolph e Peters, 1997).

A sensação dolorosa é modificada por sistemas endógenos descendentes inibitórios, como o sistema serotoninérgico, por meio da liberação de serotonina (5-HT). Esta substância pode agir promovendo redução da resposta nociceptiva (Millan, 2002; Yoshimura e Furue, 2006). A serotonina é um neuromodulador essencial, mas a sua conectividade na regulamentação dos neurônios da via serotoninérgica ainda não são bem definidos (Sparta e Stuber, 2014). Ela é o transmissor dos neurônios inibitórios que se originam no Núcleo da Rafe e se projetam ao corno dorsal, e também um dos mediadores liberados de plaquetas (humanos e ratos) e mastócitos (ratos) em tecidos lesionados ou inflamados (McMahon *et al.*, 1999; Rang *et al.*, 2007).

Alguns estudos apontam que a serotonina (5-hidroxitriptamina, a 5-HT) desempenha um papel no controle da transmissão nociceptiva. Esta monoamina aumenta e diminui as respostas nociceptivas, dependendo do local, tipo de célula e subtipo do receptor ativo (Souza *et al.*, 2014). A concentração de serotonina sináptica é controlada diretamente pela recaptação nos terminais pré-sinápticos e assim, bloqueadores do transporte de 5-HT têm sido utilizados com sucesso no tratamento da depressão e da dor crônica (Mico *et al.*, 2006; Saturnino *et al.*, 2007). O precursor da 5-HT (serotonina) é o triptofano, que é ativamente captado pelos neurônios, convertido a 5-hidroxitriptofano pela enzima triptofanohidroxilase, para em seguida ser descarboxilado por uma descarboxilase inespecífica dos aminoácidos a 5-HT. A triptofanohidroxilase pode ser seletiva e irreversivelmente inibida pela p-clorofenilalanina (PCPA) (Rang *et al.*, 2007).

Os resultados encontrados demonstraram que o sistema serotoninérgico não é responsável pela ação antinociceptiva da fração aquosa do EtOH-Ld na dosagem de 200 mg/kg. A depleção de serotonina endógena causada por PCPA, inibidor da triptofanohidroxilase, não reverteu, na 2ª fase, o efeito antinociceptivo da fração aquosa do EtOH-Ld. E os antagonistas seletivos de receptores 5-HT<sub>2</sub> e 5-HT<sub>3</sub>, cetanserina e ondansetrona, respectivamente, parecem não estar envolvidos na resposta antinociceptiva da fração aquosa do EtOH-Ld quando analisados no modelo de nocicepção induzida pela injeção intraplantar de formalina.

Com relação a influência do sistema colinérgico muscarínico sobre o efeito antinociceptivo da fração aquosa do EtOH-Ld na dosagem de 200 mg/kg, os resultados sugerem que o sistema citado pode estar envolvido no mecanismo de ação do EtOH-Ld, visto que a atropina (antagonista muscarínico não seletivo) foi capaz de inibir o efeito antinociceptivo desse extrato, que não diferiu do controle em ambas as fases.

O sistema colinérgico é considerado parte de um sistema endógeno de controle da dor, pois experimentos comprovaram que a administração intratecal de agonista colinérgico direto ou indireto é

capaz de promover antinocicepção em várias espécies animais e também no homem (Haberberger *et al.*, 2004; Hess, 2006).

A acetilcolina exerce seus efeitos através de receptores nicotínicos (acoplados a canais iônicos) e muscarínicos (ligados à Proteína G) em múltiplos processos fisiológicos. No entanto, está bem estabelecido que os agonistas colinérgicos e também os anticolinesterásicos exercem efeitos antinociceptivos por diferentes vias de sinalização, como modulação das vias serotoninérgica e adrenérgica descendentes e aumento da secreção de neurotransmissores inibitórios como GABA e glicina (Jones e Dunlop, 2007). A liberação da acetilcolina é intensificada nos neurônios do SNC a partir da ativação de receptores pré-sinápticos pela morfina, potencializando o efeito antinociceptivo, havendo íntima relação entre o sistema opióide e o sistema colinérgico, com os receptores opióides pré-sinápticos induzindo a liberação de acetilcolina (Taguchi *et al.*, 1999; Gage *et al.*, 2001; Abe *et al.*, 2003).

A ativação do nervo vago (elétrica ou por agonistas colinérgicos) diminuem a resposta inflamatória (teoria do reflexo inflamatório) pela inibição de mediadores inflamatórios (citocinas) produzidos em tecidos periféricos que notificam o SCN da presença de inflamação no organismo. A ativação do nervo vago cujo neurotransmissor é a acetilcolina inerva componentes imunológicos como linfonodos, fígado e baço, e isso tem como consequência uma redução da resposta inflamatória (Rocha, 2013).

Estudos tem mostrado que a hiperatividade parassimpática decorrente de drogas ou estimulação direta do nervo vago representa um mecanismo contrarregulador da liberação de citocinas e espécies reativas de oxigênio durante um processo inflamatório (Tsutsumi *et al.*, 2008).

Pesquisas com camundongos *knockout* para receptor  $\alpha$ -7-nicotínico mostraram in vivo a relação dessa subunidade na atividade anti-inflamatória colinérgica, pois estes animais ficaram mais sensíveis a estímulos inflamatórios porque liberaram maiores quantidades de TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 no sangue, isto sugere a estreita relação da via colinérgica muscarínica com as ações analgésicas/anti-inflamatórias (Mioni *et al.*, 2005; Xiong *et al.*, 2012; Leib *et al.*, 2013; Rocha, 2013).

Para avaliar a participação da via dopaminérgica na ação nociceptiva desse extrato, o efeito antinociceptivo da fração aquosa do EtOH-Ld foi testado em animais pré-tratados com haloperidol, um antagonista dopaminérgico não-seletivo. O haloperidol não reverteu, na 2ª fase, o efeito antinociceptivo do EtOH-Ld, sugerindo que a via dopaminérgica não está envolvida no mecanismo de ação desse extrato.

A dopamina é um neurotransmissor com ação sobre neuropatologias como o Parkinson, depressão e esquizofrenia, no entanto, estudos tem apontado o envolvimento da dopamina no processo doloroso (Tarazi, 2001; Wood, 2004). As ações fisiológicas da dopamina são mediadas por cinco receptores (D1-D5). Os receptores D1 e D5 estão acoplados à proteína G e ativam a adenilato ciclase, e os receptores D2, D3 e D4 inibem a adenilato ciclase e ativam canais de K<sup>+</sup>, o que lhes confere características inibitórias (Missale *et al.*, 1998). Os receptores dopaminérgicos encontram-se amplamente distribuídos no SNC e estão envolvidos nos controles da atividade motora, do comportamento emocional e circuitos neuroendócrinos (Black *et al.*, 2002).

Alguns estudos sugerem que a inibição da dor por estimulação dos neurônios dopaminérgicos é ativado pela exposição ao estresse, através da liberação de opióides endógenos (Taylor *et al.*, 2003; Wood, 2004).

## 5 CONCLUSÃO

A fração aquosa da casca do EtOH-Ld na posologia de 200 mg/kg apresenta, pelo teste de formalina, efeito antinociceptivo, cujo mecanismo de ação sugere o envolvimento do sistema colinérgico muscarínico.

Os sistemas serotoninérgico e dopaminérgico parecem não estar envolvidos, em virtude da ausência de resposta induzida pela mesma fração.

### **Apoio financeiro:**

CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

UFPI – Universidade Federal do Piauí

## REFERÊNCIAS

- ABE, K.; TAGUCHI, K.; KATO, M.; UTSUNOMIYA, I. et al. Characterization of muscarinic receptor subtypes in the rostral ventrolateral medulla and effects on morphine-induced antinociception in rats. *Eur. J. Pharmacology*, v.465, p.237-249, 2003.
- ALICE, C.B.; SIQUEIRA, N.C.S.; MENTEZ, L.A.; SILVA, G.A.A.B. et al. Plantas medicinais de uso popular. *Atlas Farmacognóstico*. Canoas: Editora da ULBRA/RS, 1995.
- BLACK, K.J.; HERSHEY, T.; KOLLER, J.M. et al. A possible substrate for dopamine-related changes in mood and behavior: Prefrontal and limbic effects of a D3-preferring dopamine agonist. *PNAS*, v.99, p. 17.113-17.118, 2002.
- CARVALHO, P.E.R. *Espécies arbóreas brasileiras*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, v.1. 2008.
- CARVALHO, J.E. Atividade antiulcerogênica e anticâncer de produtos naturais e de síntese. *Multicienc.*, v.7, p.1-18, 2006.
- FELÍCIO, L.P.; SILVA, E.M.; RIBEIRO, V. et al. Mutagenic potential and modulatory effects of the medicinal plant *Luehea divaricata* (Malvaceae) in somatic cells of *Drosophila melanogaster*: SMART/wing. *Genet.Mol. Res*, v.10, n.1, p.16-24, 2011.
- GAGE, H.D.; GAGE, J.C.; CHIARI, A.; TONG, C. et al. Morphine-induced spinal cholinergic activation: in vivo imaging with positron emission tomography. *Pain*, v.91, p.139-145, 2001.
- HABERBERGER, R. V.; BERNARDINI, N.; KRESS, M.; HARTMANN, P.; LIPS, K. S.; KUMER, W. Nicotinic acetylcholine receptor subtypes in nociceptive dorsal root ganglion neurons of the adult rat. *Auton Neurosci.*, v. 113, p. 32-42, 2004.
- HESS, S. Atividade antinociceptiva do ácido mirsinóico B. Itajaí, 2006. 108p. Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí, 2006.
- JONES, P., DUNLOP, J. Targeting the cholinergic system as a therapeutic strategy for the treatment of pain. *Neuropharmacol.*, vol. 53, p. 197-206, 2007.
- LEIB, C.; KATUS, H. A.; KAYA, Z. Cholinergic control of inflammation in cardiovascular diseases. *Trends Cardiovasc Med.*, v.23, n. 2, p. 46-51, 2013. Review article.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tcm.2012.08.010>
- MCMAHON, S.B. et al. Inflammatory mediators and modulators of pain. In: Wall PD, Melzack R. *Textbook of Pain*. Churchill Livingstone: Londres, 1999. p. 49-72.
- MICO, J.A.; BERROCOSO, E.; ORTEGA-ALVARO, A.; GIBERT-RAHOLA, J. et al. The role of 5-HT1A receptors in research strategy for extensive pain treatment. *Curr. Top. Med. Chem.*, v.6, p.1997-2003, 2006.
- MILLAN, M.J. Descending control of pain. *Prog. Neurobiol.*, v. 569, p. 1-120, 2002.
- MIONI, C.; BAZZANI, C.; GIULIANI, D. Activation of an efferent cholinergic pathway produces strong protection against myocardial ischemia/reperfusion injury in rats. *Crit Care Med.*, v. 33, p.2621-2628, 2005.

- MISSALE, C.; NASH, S.R.; ROBINSON, S.W.; JABER, M. et al. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol. Rev.*, n.78, p.189-225, 1998.
- PIO CORRÊA, M.P. *Dicionário das plantas uteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Desenvolvimento Florestal. Ministério da Agricultura, 1984.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. Rang & Dale *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.
- RANDOLPH, B.C.; PETERS, M.A. Analgesic effectiveness of ketorolac compared to meperidine in the rat formalin test. *Anesth Prog.*, v.44, n.1, p.11-16, 1997.
- ROCHA, J. A. *Interação da atividade autonômica e resposta imunomoduladora na fase aguda do infarto do miocárdio experimental*. São Paulo, 2013. 114p. Tese (doutorado)-Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2013.
- RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J.M.; PIRES, J.M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicos. Parte I. *Rev. bras. Farmacogn.* v.20, n.6, p.981-991, 2010.
- SATURNINO, C.; BUONERBA, M.F.; CAPASSO, A. Desing of moleculares acting on the serotonin receptors. *Lett Drug Des Discov.*, v.4, p.365-367, 2007.
- SILVA, J.A.; RIBEIRO-FILHO, N.P. A dor como um problema psicofísico. Artigo de Revisão. *Rev. Dor*, v.12, n.2, p.138-151, 2011.
- SPARTA, D.R.; STUBER, G.D. Cartography of Serotonergic Circuits. *Neuron.*, v.83, p.513-515, 2014.
- SOUZA, D.B.; MANNELLI, L.D.C.; ZANARDELLI, M.; MICHELI, L. et al. Serotonergic modulation in neuropathy induced by oxaliplatin: Effect on the 5HT<sub>2C</sub> receptor. *Eur. J. Pharmacology*, v.735, p.141–149, 2014.
- TAGUCHI, K.; KATO, M.; ABE, K.; CHIKUMA, T. et al. The effects of maophine-induced increases in extacellular acetylcholine levels in the rostral ventrolateral medulla of rat. *J Pharmacol Exp Ther.*, n.289, p.1538-1544, 1999.
- TANAKA, J.C.A.; VIDOTTI, G.J.; SILVA, C.C. A New Tormentic Acid Derivative from *Luehea divaricata* Mart. (Tiliaceae). *J. Braz. Chem. Soc.*,v.14, n.3, p.475-478. 2003.
- TARAZI, F.I. Neuropharmacology of dopamine receptors. *Med. Sci.*, v.3, p.93-104, 2001.
- TAYLOR, B.K.; JOSHI, C.; UPPAL, H. Stimulation of dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens inhibits inflammatory pain. *Brain Research.*, v.987, p.135-143, 2003.
- TSUTSUMI, T.; IDE, T.; YAMATO, M.; KUDOU, W.; ANDOU, M.; HIROOKA, Y.; UTSUMI, H.; TSUTSUI, H.; SUNAGAWA, K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res.*, v. 77, p. 713-721, 2008.
- XIONG, J.; YUAN, Y. J.; XUE, F. S.; WANG, Q.; CHENG, Y.; LIAO, X.; LIU, J. H. Posconditioning with  $\alpha 7nAChR$  agonist attenuates systemic inflammatory response to myocardial ischemia-reperfusion injury in rats. *Inflammation*, v. 35, n. 4, p. 1357-1364, 2012.

WOOD, P.B. Stress and dopamine: implications for the pathophysiology of chronic widespread pain. *Med. Hypoth.*, v.62, p.420-424, 2004.

YOSHIMURA, M.; FURUE, H. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. *J. Pharm. Sci.* v.101, p.107-117. 2006.