

Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia

**Avaliação de atividades biológicas de flavonóides
isolados da entrecasca de *Sebastiania jacobinensis*
(MUILL. ARG.) MUILL. ARG**

ANDRÉA KARLA SALES DA SILVA

RECIFE – 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

ANDRÉA KARLA SALES DA SILVA

**Avaliação de atividades biológicas de flavonóides isolados da
entrecasca de *Sebastiania jacobinensis* (MUILL. ARG.) MUILL. ARG**

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Tereza dos Santos Correia

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Teresinha Gonçalves da Silva

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

**Avaliação de atividades biológicas de flavonóides isolados da
entrecasca de *Sebastiania jacobinensis* (MUILL. ARG.) MUILL. ARG**

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Bioquímica
e Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco.

2010

Silva, Andréa Karla Sales da

Avaliação de atividades biológicas de flavonóides isoladas da entrecasca de *Sebastiania jacobinesis* (MUIII. ARG.) MUIII. ARG / Andréa Karla Sales da Silva. – Recife: O Autor, 2010.

62 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia

Co-Orientadora: Teresinha Gonçalves da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Bioquímica e Fisiologia, 2010.

Inclui bibliografia

1. Plantas medicinais 2. Agentes antiinflamatórios – Brasil – Nordeste I. Título.

581.634

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2011-135

*A meu pai que não teve a
oportunidade de presenciar este e
outros importantes momentos de
minha vida*

Ofereço

*A Deus por ter me dado o
privilegio de existir, por esta ao
meu lado em todos os momentos
de minha vida dando condições
para que eu chegasse até aqui.*

Dedico

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Usos de plantas na medicina popular	16
1.2 Família Euphorbiaceae	17
1.2.1 <i>Sebastiania jacobinenceae</i>	18
1.3 Flavonóides: Aspectos gerais	20
1.4 Dor	23
1.4.1 Agentes analgésicos	27
1.5 Mecanismos envolvidos no Processo Inflamatório	27
1.5.1 Agentes Antiinflamatórios	31
2. OBJETIVOS	35
2.1 Objetivo geral	35
2.2 Objetivos específicos	35
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
4. ARTIGO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO	46
5. CONCLUSÕES	60

AGRADECIMENTOS

Sou imensamente grata a Deus por me dar uma nova oportunidade, saúde e força para cumprir o meu objetivo. Por continuar guiando meus passos me carregando em seus braços nos momentos em que eu julgava que não iria conseguir.

A minha mãe, Linda, e ao meu irmão, Carlos, por terem sido a base sólida na qual eu sempre pude me apoiar na subida de todos os degraus de minha vida, pelo o carinho e confiança a mim dedicados.

A meu querido esposo, Gleybson, pelo carinho, apoio e paciência nas horas difíceis desta reta final da minha caminhada.

Quero agradecer imensamente a Prof.^a Maria Teresa dos Santos Correia, que desde a graduação, me forneceu todo incentivo e apoio, me auxiliando nos caminhos da sabedoria; por sua orientação, liberdade e total dedicação.

A minha co-orientadora Prof.^a Dra. Teresinha Gonçalves da Silva, por suas coerentes reflexões, por seu incentivo, por sua serenidade e pelas horas dedicadas a leitura do meu trabalho.

A meu amigo e companheiro de trabalho, Sandro Nascimento, pela ajuda nos experimentos, paciência e principalmente pela sua amizade que foram essenciais para a concretização deste trabalho.

Aos meus amigos do LBPF- Laboratório de Bioanálise para Pesquisa de Fármacos, Thiago, Aline, Larissa, Clarissa, Luana, Jaciana, André e Diana, pela ajuda nos experimentos, pelos os momentos de descontração e pelo conhecimento compartilhado.

A todos os amigos que fazem parte do Laboratório de Glicoproteínas do Departamento de Bioquímica da UFPE, pela convivência, ajuda, amizade e apoio; em especial, Felipe, Giselly, Lidiane, Thiago, Francis, Nataly, Carina, Larissa, Mari, Cynara e Érica,

Ao querido amigo, Fernando, uma amizade iniciada na graduação. Obrigada por está sempre disposto a me ajudar, principalmente no final desta jornada.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Bioquímica da UFPE, em especial a Miron, Djalma, Neide, João Virgílio e Maria Reis pelo apoio e ajuda constante.

A minhas grandes amigas Luciana, Paula, Carol, Fábiana e Cecília; algumas um pouco mais distantes, outras mais próximas, mas nunca nenhuma deixou de estar a meu lado sempre, nos momentos bons e ruins. A vocês sempre serei grata pelas as palavras de incentivo, pelo ombro amigo, pelos conselhos que me ajudaram a superar os

momentos difíceis e pelos diversos momentos que passamos juntas sempre regado com muito carinho, paciência, lágrimas, brigas, risadas, companheirismo, mais acima de tudo sinceridade. Amo muito vocês meninas!!

Minhas palavras não terão jamais a capacidade de expressar o tamanho da minha gratidão e carinho por todos aqueles que estiveram ao meu lado em todos os momentos deste trabalho. Aqui não faço distinção do tempo que cada um dedicou para me ajudar ou do tempo que está na minha vida, o que importa é que todos participaram de alguma forma (mesmo sem saber) e a todos agradeço com a mesma intensidade.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidônico
AINEs	Drogas antiinflamatórias não-esteroidais
CEEa – UFPE	Comissão de Ética e Experimentação Animal da UFPE
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COX	Ciclooxigenase
DEAE-cellulose	do inglês Diethylaminoethyl-cellulose (Dietilaminoetil-celulose)
EA	Extrato alcóolico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
IASP	Associação Internacional para o Estudo da Dor
IFN-γ	Interferon γ
ILs	Interleucinas
LTB₄	Leucotrienos B ₄
NAPs	Neurônios aferentes primários
ON	Oxido nítrico
NOS	Oxido nítrico sintase (do inglês nitric oxide sintase)
PGs	Prostaglandinas
pH	Potencial de Hidrogeniônico
PGD₂	Prostaglandina D ₂
PGF_{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PGH₂	Prostaglandina H ₂
PGI₂	Prostaglandina I ₂
PLA₂	Fosfolipase A ₂
PMN	Polimorfonuclear
PMNL	Leucócito polimorfonuclear (do inglês polymorphonuclear leukocyte)
S.E.M.	Standard error medium
SNC	Sistema nervoso central

TNF- α	Fator de necrose tumoral α
TX	Tromboxano
TX A₂	Tromboxano A ₂

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	Página
Figura 1. <i>Sebastiania jacobinenceae</i>	19
Figura 2: Estruturas básicas das principais Classes de Flavonóides.	21
Figura 3: Exemplo de estrutura de alguns flavonóides glicosídeos.	22
Figura 4. Fenômeno sensitivo-doloroso. Os axônios das fibras aferentes primárias que inervam as regiões periféricas transmitem o impulso nociceptivo até o SNC.	25
Figura 5. Cronograma esquemático das etapas da cascata inflamatória que pode levar a resolução e reparação final da lesão inicial, ou sob a influência da estimulação contínua, progride em uma cascata inflamatória crônica.	29
Figura 7: Esquema representativo da formação de prostaglandinas pela COX.	33

LISTA DE FIGURAS DO ARTIGO

FIGURA

Página

Figure 1- Effect of pretreatment EA [A] and flavonoid [B] on the migration of polymorphonuclear leukocytes (number of PMNL/ml exudate) with carrageenan-induced peritonitis in mice. Each column represents the mean of six animals and vertical lines show SEM Asterisk denotes the level of significance in relation to the value of the control: * $P < 0.05$. Dexamethasone, piroxicam and indomethacin were used as standard drug.

59

Figure 2 - Effects of Dipyrone (standard drug), EA [A] and flavonoid [B] in the control group in writhing induced in rats by intraperitoneal injection of acetic acid. Each column represents the mean of six animals and vertical lines show SEM Asterisk represents the level of significance in relation to the intervals of the control: * $P < 0.05$.

60

LISTA DE TABELAS

TABELA	Páginas
Table 1 – Evaluation of antiinflammatory activity of standard drugs (dexamethasone, piroxicam and indomethacin), EA and Flavonoid on carrageenan-induced peritonitis in pre-treated mice.	56
Table 2 – Anti-nociceptive effect of standard drug (dipyrone), EA and flavonoids by acetic acid-induced writhing response test in mice.	57

RESUMO

As plantas são a fonte dietética primária de compostos fenólicos, responsáveis por muitos benefícios da saúde. Nesta classe estão inseridos os flavonóides. Flavonóides são compostos polifenólicos de origem biossintética, com a mesma estrutura química, um esqueleto benzopirânico. Estes compostos fenólicos são diferenciados de acordo com o grau de insaturação, a oxidação dos três segmentos de carbono, e polimerização, que podem influenciar a sua atividade biológica. *Sebastiania Jacobinensis* Müll. Arg. (Família Euphorbiaceae) é uma árvore comum encontrada na região nordeste do Brasil, e utilizada na medicina popular. O presente estudo teve como objetivo avaliar atividade antiinflamatória e antinociceptiva do extrato alcoólico (EA) e de flavonóides isolados da entrecasca de *Sebastiania jacobinensis* (MUIILL. ARG.) MUIILL. ARG. EA foi preparado numa concentração de 10 % (p/v) de farinha da entrecasca de *S. jacobinensis* em solução alcoólica, sob agitação constante, durante 2 h a 4 °C. Foi realizada uma abordagem fitoquímica do extrato e observou-se grande presença de flavonóides e para o isolamento deles, submetemos o EA a uma cromatografia em suporte de DEAE-celulose, utilizando álcool 70% para lavar e uma solução de 10% de ácido Acético, 10% de água destilada e 80% de etanol absoluto para eluir. Foram utilizados camundongos fêmeas Swiss Webster (25-30g, n= 5-8), submetidos ao modelo de dor induzido pelo ácido acético (1%), e ao modelo de inflamação induzida por carragenina (1%). Nos dois testes as concentrações das amostras utilizadas foram 25, 50 e 100 mg/kg de animal. Os resultados da investigação fitoquímica de EA apresentou proantocianidinas condensadas, terpenos e polifenóis como principais constituintes. A atividade antiinflamatória revelou inibição da inflamação em 54,14% quando tratados com EA (100 mg/kg) e 61,10% quando tratados com o flavonóide (100 mg/kg). As preparações também diminuíram em até 71% as contorções e estiramentos dos animais tratados com EA (100 mg/kg) e em até 58% dos camundongos tratados com o flavonóide (25 mg/kg). Sendo assim, os testes em in vivo revelam que os metabólitos secundários presentes no EA de *S. jacobinensis* e seu flavonóide isolado apresentam atividade antinociceptiva e antiinflamatória significativa comparadas aos resultados de fármacos já utilizados, podendo, com o aprofundamento das pesquisas, serem usados como método terapêutico contra dor e a inflamação.

Palavras-chave: Euphorbiaceae; *Sebastiania jacobinensis*; Flavonóides; atividade antiinflamatória; atividade antinociceptiva

ABSTRACT

Plants are the primary dietary source of phenolic compounds, responsible for many health benefits. In this class are inserted flavonoids. Flavonoids are polyphenolic compounds of biosynthetic origin, with the same chemical structure, a benzopyran skeleton. These compounds are broken down according to the degree of unsaturation, the oxidation of the three segments of carbon, and polymerization, which may influence their biological activity. *Sebastiania Jacobinensis* Müll. Arg. (Family Euphorbiaceae) is a common tree found in northeastern Brazil, and used in folk medicine. This study aimed to evaluate anti-inflammatory and antinociceptive stratum alcohol (EA) and flavonoids isolated from the bark of *Sebastiania jacobinensis* (MUILL. ARG.) MUILL. ARG. EA was prepared at a concentration of 10% (w / v) of flour in the bark of *S. jacobinensis* in alcoholic solution under stirring for 2 h at 4 ° C. Been questioned phytochemical extract and showed great presence of flavonoids and to isolate them, submit the EA to a chromatography support DEAE-cellulose using 70% alcohol to wash and a 10% solution of acetic acid, 10% distilled water and 80% of absolute ethanol to elute. We used Swiss Webster female mice (25-30g n = 5-8), subject to the type of pain induced by acetic acid (1%), and the model of inflammation induced by carrageenan (1%). In both tests the concentrations of the samples used were 25, 50 and 100 mg / kg of animal. The results of phytochemical screening of EA showed condensed proanthocyanidins, terpenes and polifenóis as main constituents. The anti-inflammatory activity showed inhibition of inflammation by 54.14% when treated with EA (100 mg / kg) and 61.10% when treated with the flavonoid (100 mg / kg). The preparations also decreased by 71% in the twisting and stretching of the animals treated with EA (100 mg / kg) and up to 58% of mice treated with the flavonoid (25 mg / kg). Thus, tests in vivo show that the secondary metabolites present in EA *S. jacobinensis* and its isolated flavonoid present antinociceptive activity and anti-inflammatory significant compared to the results of drugs already in use, and may, with the deepening of research, be used as a treatment against pain and inflammation.

Keywords: Euphorbiaceae; *Sebastiania jacobinensis*; Flavonoids; anti-inflammatory activity, antinociceptive activity

1. INTRODUÇÃO

1.1 Usos de plantas na medicina popular

O uso dos produtos naturais pela humanidade aumentou muito nas últimas décadas, devido ao grande investimento do setor farmacêutico nas pesquisas farmacêuticas (STEEP, 2004; SOUZA et al., 2005). Apesar das investigações e estudos científicos sobre plantas medicinais, se conhece pouco sobre os princípios ativos e as extraordinárias qualidades curativas de muitas espécies vegetais; dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial de cura, número que cai para 10% no Brasil, quando deveria ser mais alto, já que o país representa a maior diversidade genética vegetal do planeta (MIGUEL, et al. 2000; SIMÕES, 1999; SOEJARTO, 1996).

Os compostos produzidos pelos vegetais são divididos em dois grupos: os metabólitos primários, tais como carboidratos, aminoácidos e lipídios; e os metabólitos secundários que são compostos elaborados a partir da síntese dos metabólitos primários, tais como compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides. São esses compostos os responsáveis pelos efeitos medicinais ou tóxicos. Eles apresentam grande importância ecológica, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores, ou representar uma defesa química contra estresse ambiental (BALADRIN et al., 1985; Di STASI, 1995). Alguns metabólitos secundários possuem grande valor agregado devido às suas aplicações como medicamento, cosméticos, alimentos e agroquímicos (PHILLIPSON et al., 1998). Muitas dessas substâncias constituem-se, sobretudo, em modelos para o desenvolvimento de medicamentos sintéticos modernos.

O uso milenar de plantas medicinais mostrou ao longo dos anos, que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, pesquisas mostram que possuem substâncias potencialmente agressivas e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos (VEIGA JR et al., 2005). Estudos multidisciplinares, associando fitoquímicos e farmacólogos, tornam-se cada vez mais importantes para a definição dos potenciais terapêuticos e tóxicos de extratos vegetais (MACIEL et al., 2002).

O Brasil tem quase um terço da flora mundial representada em dez biomas com uma biodiversidade exuberante. Entretanto, muito pouco tem sido realizado para transformar esse potencial em vantagem competitiva, produtos e patentes, principalmente se considerarmos o desenvolvimento como forma de inserção social, de proteção e manutenção desses ecossistemas (GOTTLIEB et al., 1996). Muitos exemplares de plantas medicinais da biota brasileira já foram amplamente estudados, no entanto, a maioria delas não possui sequer algum estudo científico. Dessa forma, as plantas medicinais no Brasil ainda são pouco conhecidas e constitui um fascinante caminho de pesquisa acadêmica e de desenvolvimento nacional.

1.2 Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae apresenta-se como arbóreas, arbustivas, subarbustos e ervas com presença de substâncias laticíferas. É uma família botânica cosmopolita composta de 240 gêneros com aproximadamente 6000 espécies distribuídas principalmente nas regiões tropicais, onde os maiores centros de dispersão ficam na América e na África. Seu nome origina de uma homenagem feita pelo rei mouro Juba II, em 30 a.C., ao seu médico Euphorbus, o qual descobriu as propriedades medicinais da *Euphorbia resinifera*, planta que ainda ocorre naturalmente no norte africano (PEREIRA, 1999; CORRÊA, 1984).

As Euphorbiaceae destacam-se como uma das famílias mais importantes economicamente. A seringueira (de onde se extrai o látex usado para a manufatura de borracha natural) é nativa da floresta amazônica, onde gerou o ciclo da borracha até ser cultivada com mais produtividade e custos menores no Sri Lanka e nas florestas do arquipélago malaio. A mamona, nativa da África, é fonte de óleo de rícino, fibras vegetais e compostos químicos usados na medicina, além de óleo lubrificante aplicado em propulsores de ônibus espaciais e foguetes. A mandioca (*Manihot esculenta*) é fonte primária de alimento (principalmente de amido) em boa parte do nordeste brasileiro, e sua farinha é consumida em larga escala em todo o país. Algumas espécies de *Croton* e *Euphorbia* são reputadas como plantas medicinais. Muitas espécies movimentam grandes somas de dinheiro no mercado de plantas ornamentais, *Euphorbia (poinsettia)*, *Codiaeum (croton)* e *Phyllanthus (Otaheite gooseberry)* (WATSON et al., 1992).

1.2.1 *Sebastiania jacobinensis*

Árvore inerme, lactescente, até 8 m de altura, possui copa pequena, irregular, semipersistente, de coloração verde-escura (**Figura 1a**). O tronco é geralmente curto, com casca externa rugosa e cor marrom-acinzentada. Suas folhas são simples, alternas, glabras, de consistência coriácea, medem de 2 a 7 cm de comprimento por 1 a 3 cm de largura (**Figura 1b**). Apresentam geralmente ápice agudo, base cuneada, margem levemente serreada a dentado-crenada e pecíolo de até 7 mm de comprimento. As flores são pequenas, amarelas, dipostas em espigas terminais de 3 a 6 cm de comprimento. Os frutos são cápsulas globosas com seis ângulos, de coloração parda, medem de 8 a 10 mm de diâmetro e possuem 3 a 6 sementes em seu interior (**Figura 1c**). A floração ocorre de setembro a fevereiro e a frutificação de novembro a maio (FLORA BRASILIENSIS, 2001). Localiza-se predominantemente na região da caatinga nordestina havendo relatos de identificação no estado da Bahia e Pernambuco (CARVALHO, 1994; IBGE, 1988). Encontra-se catalogada na Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) sobre número de registro 01/2006. No levantamento bibliográfico realizado não foi encontrado nenhum relato de investigação científica nesta espécie deixando desde já, aqui registrado, apenas aplicações fitoterápicas contra infecções e processos de hipersensibilidade. Recentemente, Vaz et al. (2010) isolaram uma lectina da entrecasca com massa molecular de 52,0 kDa, que inibiu o crescimento micelial de *Fusarium moniliforme* e *Fusarium oxysporum*.

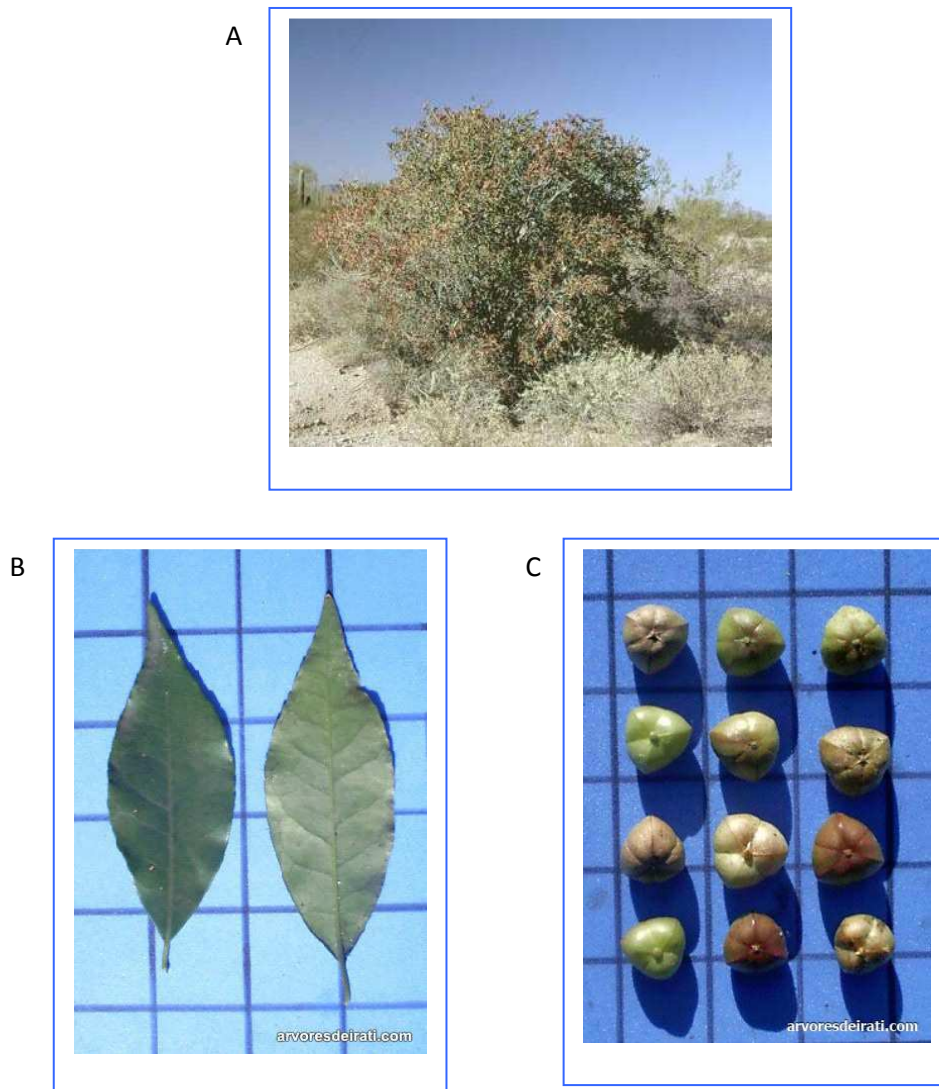


Figura 1. *Sebastiania jacobinensis*

1.3 Flavonóides: Aspectos gerais

Flavonóides são compostos polifenólicos de origem biossintética, com a mesma estrutura química, um esqueleto benzopirânico. Trata-se de metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal. Até o momento já foram descritas mais de 4.000 moléculas pertencentes a este grupo que são comuns em todas as plantas vasculares (DIXON et al., 1999; FILHO et al., 2008). Eles são pigmentos responsáveis pela explosão de cores outonais e os muitos tons de amarelo, laranja e vermelho nas flores (PIETTA et al., 2000). São importantes para o crescimento normal, desenvolvimento e defesa das plantas (KUMMER et al., 2001).

Os flavonóides provavelmente já existiam no reino vegetal há mais de um bilhão de anos (DIXON *et al.*, 1990). A grande prevalência de flavonóides no reino vegetal não é acidental, eles não só agem como os pigmentos coloridos de flores, mas também atuam como inibidores de enzimas, precursores de substâncias tóxicas e defesa contra a exposição à radiação ultravioleta; são agentes quelantes de metais nocivos, agentes redutores. Além disso, os flavonóides estão envolvidos na fotossensibilização, transferência de energia, morfogênese e determinação do sexo; nos níveis de respiração e fotossíntese, na ação dos hormônios vegetais, e também na expressão gênica (FERGUSON et al., 2001; SANDERSON et al., 1999; DUARTE et al., 2001; CHAN et al., 1999; MANTHEY et al., 2000). Os flavonóides desempenham um papel importante no crescimento e desenvolvimento das plantas, e na defesa contra microorganismos e parasitas (DIXON *et al.*, 1990). Essas propriedades dos flavonóides nas plantas têm estimulado o interesse de suas atividades farmacológicas em humanos (Di CARLO et al., 1999).

Com base em seu esqueleto, os flavonóides são classificados em oito grupos: flavanas, flavanonas, isoflavanonas, flavonas, isoflavonas, antocianidinas, chalconas e flavonolignaninas . A estrutura destes compostos é derivado de um hidrocarboneto heterocíclico, por substituição de seu anel C nas posições 2 - ou 3 - por um grupo fenil (anel B) para formar as Flavanas; se ocorrer outra substituição por um grupamento oxo - na posição 4 o resultando será flavanonas e isoflavanones. Dependendo da substituição do anel-C, estes flavonóides são atribuídos como Flavonas (grupo 2-fenil), ou isoflavonas (grupo 3-fenil) (**Figura 2**). A presença de mais uma dupla ligação no anel C em vez de um grupo oxo torna estes compostos coloridos, formando o conhecido

grupo das antocianidinas. Além disso, chalconas, compostos bi-cíclicos que possuem um anel C aberto, são também classificados como flavonóides (HODEK et al., 2002).

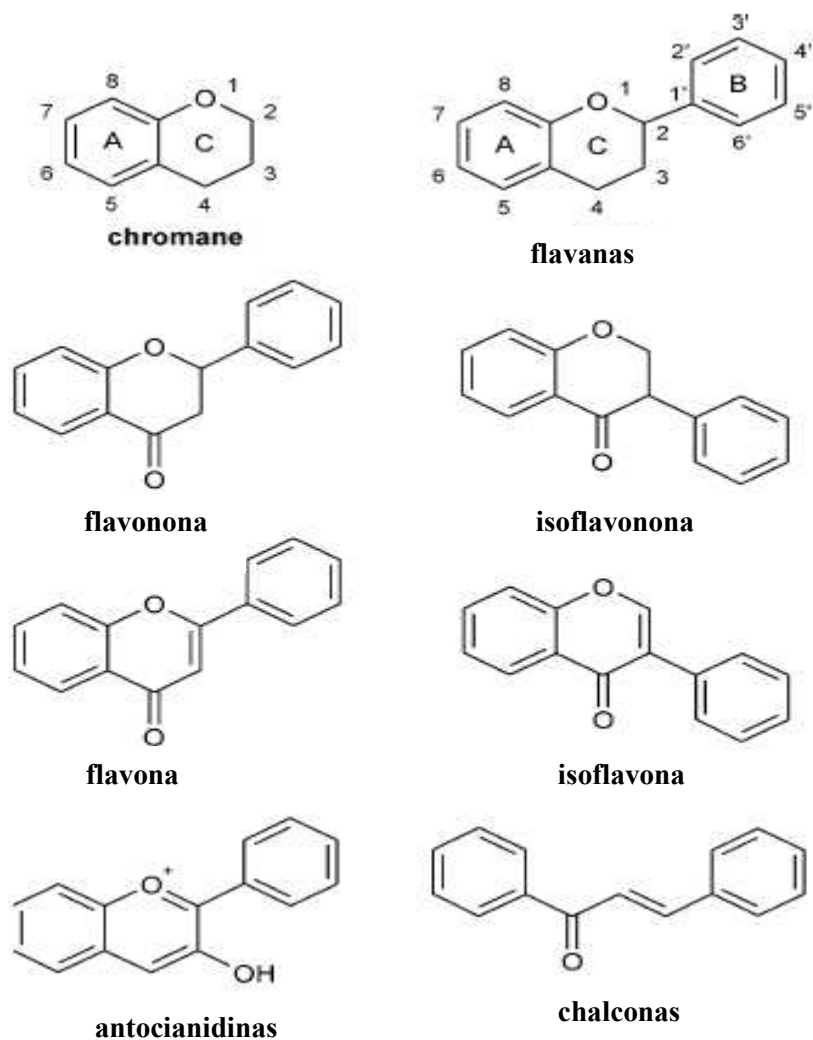


Figura 2: Estruturas básicas das principais Classes de Flavonóides.
Fonte: Hodek (2002).

Os flavonóides também podem ser classificados quanto à presença ou não de carboidratos, em: agliconas (composto de um anel de benzeno condensado com um anel

de seis membros que possui um anel fenil na posição 2), e glicosídeos (que transportam um ou mais resíduos de açúcar no anel) **Figura 3** (Di CARLO et al., 1999).

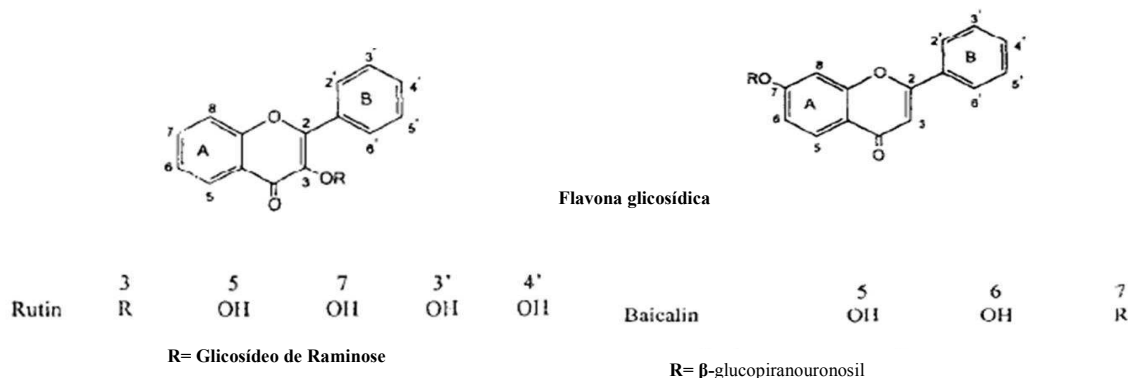


Figura 3: Exemplo de estrutura de alguns flavonóides glicosídeos. Adaptada de Di Carlo (1999).

Flavonóides não podem ser sintetizados por seres humanos o que os torna importantes componentes da dieta, encontrados em frutas (de frutas cítricas podem representar até 1% de material fresco) e em vegetais (PETERSON et al., 1998, HODEK et al., 2002). A principal fonte de flavonóides inclui frutas e produtos de frutas (por exemplo, frutas cítricas, roseira, damascos, cerejas, uvas, groselhas, mirtilos, maçãs), vegetais (por exemplo, cebola, pimentão, brócolis, tomate, espinafre), folhas de chá, soja, e ervas aromática (BARNES et al., 2001). Os flavonóides são encontrados em diversas plantas medicinais e medicamentos naturais sendo utilizados na medicina popular.

Em 1930, os flavonóides foram descobertos por Albert Szent-Gyorgyi, Prêmio Nobel, como compostos com pronunciada atividade antioxidante. Sua capacidade de eliminação de radicais hidroxila é um importante exemplo das contribuições dos flavonóides para a saúde do organismo, sendo importante na prevenção de doenças associadas a um dano oxidativo das membranas, proteínas e DNA (FERGUSON et al.,

2001). Desde então várias são as pesquisas que visam desvendar os efeitos desses compostos a saúde humana. Aos flavonóides, são atribuídos um amplo número de atividade farmacológicas que aparentemente não tem relação entre si. Dentre elas cabe destacar as suas propriedades diuréticas (WANG, 2000), antiespasmódicas (MUROTA, et al., 2003), antiinflamatórias (THEOHRIDES et al., 2001), antibacterianas (PLAPER et al., 2003), antiulcerativas (FRANCESCA et al., 2000), antivirais (LIN et al., 1997b, KIM et al., 1998, CHIANG et al., 2003), antifibrótica (QI, 2001), estrogênicas, antioxidantes (BOADI et al., 2003), antineoplásicas (LOPEZ-LOZARO, 2002), antifúngica (STEVENSON et al., 1999) e antibacteriana (HARAGUCHI et al., 1998).

Apesar de todas essas propriedades benéficas, a maioria delas não apresenta mecanismo de ação definidos e há falta de dados farmacológicos e de ensaios clínicos adequadamente padronizados, isso tem levado na maioria dos casos, a considerá-los, como uma terapia de segunda ordem. Dessa maneira, se faz necessária intensa pesquisa não só para comprovar a existência da atividade farmacológica como também para elucidar a maneira e o mecanismo de ação.

1.4 DOR

A dor é um dos maiores flagelos que acometem a humanidade. Numerosos esforços são empreendidos à procura de mecanismos que justifiquem sua existência e de métodos destinados ao seu controle. Dor é uma das principais causas de sofrimento, incapacidades, inabilidades e de imensuráveis repercussões psicossociais e econômicas.

O comitê de taxonomia da Associação Internacional para o Estudo da Dor (do inglês, International Association for the Study of Pain - IASP) conceitua a dor como “experiência sensorial e emocional desagradável, que é associada e/ou descrita em termos de lesões teciduais”. A dor é sempre subjetiva. Cada indivíduo utiliza a palavra dor de acordo com o aprendizado frente a suas experiências prévias. É uma sensação desagradável localizada em uma parte do corpo; constitui adicionalmente uma experiência emocional” (MERSKEY et al., 1979). A dor tem valor biológico fundamental: alerta o indivíduo sobre a ocorrência de alguma forma de lesão orgânica instalada ou em vias de se instalar. Entretanto, muitas vezes, manifesta-se mesmo na ausência de agressões teciduais vigentes, tal como ocorre na neuropatia periférica ou central e em certas afecções psicopatológicas (FIGUEIRÓ et al., 2001).

Os estímulos e as condições que causam a dor podem variar e dependem em parte do tecido específico e da natureza, intensidade e duração do estímulo. Em geral, os estímulos que são percebidos como dolorosos têm o potencial de causar dano aos tecidos (SMITH, 1992). A transmissão da dor envolve várias interações entre mecanismos tanto periféricos quanto centrais, desde a superfície da pele até o córtex cerebral (FURST, 1999; LOSER et al., 1999). O primeiro passo na sequência dos eventos que a originam, é a transformação dos estímulos ambientais em potenciais de ação que, das fibras periféricas, são transferidos para o sistema nervoso central (SNC) (**Figura 4**). Os sinais nocivos são gerados nos receptores nociceptivos, representados pelas terminações nervosas livres presentes em fibras aferentes tipo A δ (A-delta, pequenas e pouco mielinizadas, de condução rápida) e tipo C (pequenas e amielínicas, de condução lenta), que respondem a uma variedade de estímulos fisiológicos intensos tais como calor, frio, compressão e substâncias potencialmente nocivas (BESSON et al., 1969; BROOKS et al., 2005).

Praticamente todos os tecidos são inervados por fibras aferentes. A sensibilização dos receptores pode decorrer do acúmulo de substância algio gênicas concentradas nos tecidos em decorrências da lesão tecidual ou do processo da inflamação neurogênica ou da liberação de prostanóides pelo sistema nervoso simpático (TEXEIRA et al., 2001). Dentre os diversos mediadores pode-se destacar: íons hidrogênio, norepinefrina, bradicinina, histamina, íons potássio, citocinas, óxido nítrico e produtos do metabolismo do ácido aracdônico (CALIXTO et al., 2001).

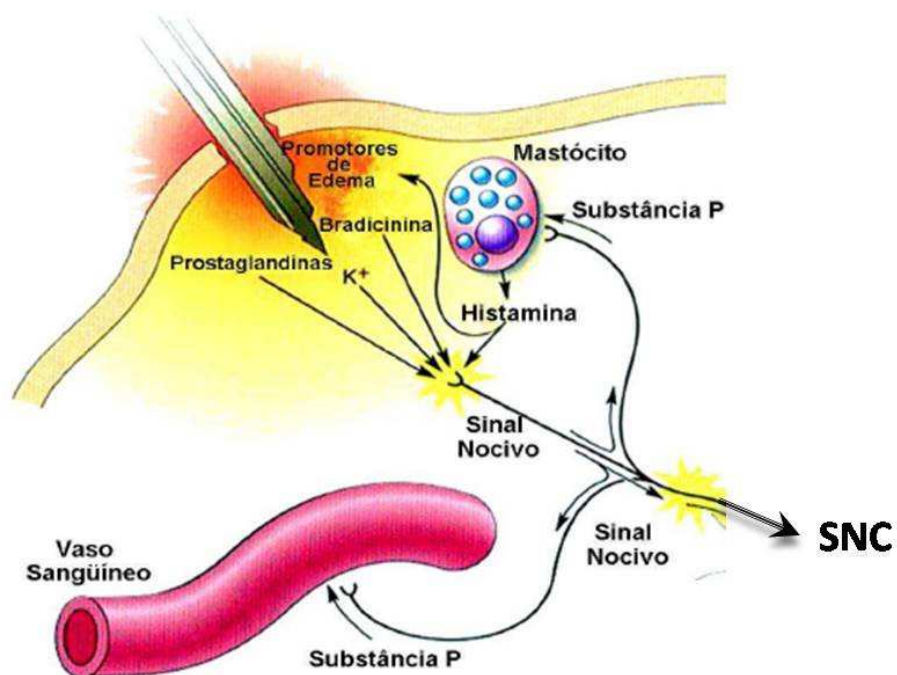


Figura 4. Fenômeno sensível-doloroso. Os axônios das fibras aferentes primárias que inervam as regiões periféricas transmitem o impulso nociceptivo até o SNC. Adaptado de Bear (2000)

Segundo LOSER & MELZACK (1999) quanto ao critério de duração da resposta álgica o episódio doloroso pode ser classificado em agudo ou crônico. No tipo agudo ocorre injúria substancial de um tecido com ativação de nociceptores no local do tecido lesado, os NAPs (neurônios aferentes primários) especializados, capazes de codificar o estímulo nocivo quanto à sua modalidade, intensidade, duração e localização (TURK et al., 1992; PRADO et al., 2001). É fundamental para a preservação da integridade do indivíduo porque é um sintoma que alerta para a ocorrência de lesões no organismo. A injúria altera a resposta característica dos nociceptores, suas conexões centrais e o sistema nervoso autônomo. O papel dessa dor é simples, mas importante, como sinal de alerta, indicando perigo, risco, já que informa ao corpo sobre o perigo potencial e, via de regra inicia respostas reflexas de retirada do segmento corporal da fonte do estímulo nocivo (BROWN et al., 1990; TURK et al., 1992; PRADO et al., 2001).

Já a dor crônica pode ser entendida como a que se mantém após a cura da lesão inicial, ou que persiste além de semanas ou meses. Muitas vezes apresenta etiologia incerta, não desaparece com emprego de procedimentos terapêuticos convencionais e é a causa de incapacidades e inabilidades prolongadas (MACFARLANE et al., 1997; FEUERSTEIN et al., 1992; TEXEIRA et al., 1999^a; FERREIRA et al., 2004). Na fase crônica, a dor está geralmente associada a alterações ou danos ao tecido nervoso, caracterizando-se a dor neuropática, comum especialmente em idosos. Nesta condição, a dor aparentemente perde qualquer função adaptativa e torna-se de fato patológica (WOOLF et al., 1999; PERISSINOTTI, 2001; MCQUAY, 2002).

A capacidade que o organismo tem de perceber e responder a um estímulo doloroso dar-se o nome de Nocicepção, e pode variar de acordo com a dimensão do estímulo. Os nociceptores (do latim *nocere*, machucar) são os responsáveis por receber o estímulo, eles estão localizados nas terminações livres dos axônios periféricos dos NAPs, estão localizados em todo o corpo, exceto no cérebro e nos ossos. O estímulo é levado até o SNC onde os gânglios da raiz dorsal sintetizam diversas substâncias que irão atuar como neurotransmissores e neuromoduladores da dor. Em seguida os corpos celulares dos NAPs, que estão localizados nos gânglios da raiz dorsal, enviarão essas substâncias tanto para o ramo periférico quanto para o ramo central dos NAPs, exercendo função na dor tanto periférica quanto centralmente (RANG et al.,; TEIXEIRA et al., 2001).

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

1.4.1 Agentes analgésicos

Várias classes de fármacos são utilizadas para o tratamento da dor. Os agentes analgésicos foram classificados em dois grupos segundo Teixeira (2001): Os opióides e os analgésicos antiinflamatórios (não opióides).

Os fármacos opióides são agentes utilizados para o controle das dores de intensidade moderada a forte, tanto em quadros álgicos agudos quanto crônicos. Os agentes opióides apresentam efeitos farmacológicos dependentes da natureza dos receptores e das suas características (FERREIRA et al., 2004; PATT et al., 1992; FERRER-BRECHNERT et al., 1984). O efeito analgésico é mediado via inibição da liberação de neurotransmissores (substância P e neuropeptídeos) pelas terminações nervosas livres periféricas (local da lesão tecidual) e centrais (substância cinzenta da medula espinhal) e da dopamina nos núcleos da base bem como via de ativação de unidades supressoras da dor do tronco encefálico (RANG et al., 1991). Além do mais, são fármacos de ação longa, por exemplo, metadona ou preparados para liberação prolongada que permite analgesia durante 72 horas; exemplos: morfina, tramadol, fentanila (OMOIGUI et al., 1995).

Os não opióides apresentam eficácia analgésica nos casos de dor de pequena ou média intensidade, e em contraste aos analgésicos opióides, essas drogas não produzem dependência física (NATHAN et al., 1996). Seus efeitos farmacológicos estão ligados principalmente a inibição da ciclooxigenase (COX), uma enzima que catalisa a conversão do ácido araquidônico em endoperóxidos cíclicos instáveis intermediários (Prostaglandinas, Prostaciclina) envolvidos no processo inflamatório e na sensibilização das vias dolorosas centrais e periféricas. São representados pelos grupos dos AINEs (antiinflamatórios não-esteróides), onde seus componentes apresentam estrutura química variada e que além de atividade analgésica apresentam também atividade antipirética, uricosúrica e antiinflamatória (INSEL et al., 1990).

1.5 Mecanismos envolvidos no Processo Inflamatório

Desde o início do século XIX, o processo inflamatório tem sido um dos mecanismos mais intensamente investigados nas áreas da medicina experimental. Segundo Schonbein (2006) a inflamação é o mecanismo básico disponível para o reparo

do tecido após uma lesão. É constituído de uma cascata de reações celulares e microvasculares, que servem para remover o tecido danificado e gerar novos tecidos. Dessa forma o mecanismo é bem mais complexo do que aparenta, envolvendo uma complexa variedade de células (neutrófilos, macrófagos e células mononucleares), bem como moléculas inflamatórias como Prostaglandinas (PGs), óxido nítrico (ON), citocinas pro-inflamatórias como o fator de necrose tumoral α (TNF- α), interleucina 1 (IL-1), interleucina 12 (IL-12), interferon γ (IFN- γ) e quimiocinas). A inflamação ocorre como uma resposta inespecífica, ou seja, o padrão inicial é independente do agente ou do evento causal, e é caracterizada por uma série de alterações que tende a limitar os efeitos da agressão (STEVENS & LOWE, 2002; SILVERTHORN, 2003).

Clinicamente o processo inflamatório pode ser caracterizado pela presença de rubor (aumento do fluxo sanguíneo), calor (aumento de temperatura), tumor (acúmulo de líquido nos espaços intersticiais), dor (resultante de uma combinação de fatores, inclusive a pressão nos terminais nervosos resultante dos edemas) e perda da função (resultante principalmente do edema e da dor e pode ser total ou parcial) (SOSA et al., 2002; STEVENS & LOWE, 2002; FERREIRA et al., 2004; MONTENEGRO et al., 2004; DINTZIS, 2007).

A cascata inflamatória é pré-programada e estereotipada. É o único mecanismo conhecido para reparação tecidual após a lesão e, como tal, está no cerne do pensamento médico (**Figura 5**). Alguns dos processos celulares mais interessantes (por exemplo, quimiotaxia, fagocitose, mitose, diferenciação celular) fazem parte da cascata inflamatória (SCHONBEIN et al., 2006). A cascata inflamatória é dividida em duas fases: Fase exsudativa e Fase produtiva. A Fase Exsudativa é caracterizada pelas alterações vasculares que propiciam a saída dos vasos de seus constituintes líquidos e de suas células. Já na Fase Produtiva temos a proliferação local de vasos e células, o que corresponde a uma tentativa do organismo de reparar as alterações causadas pela agressão e pela fase exsudativa (MONTENEGRO et al., 2004).

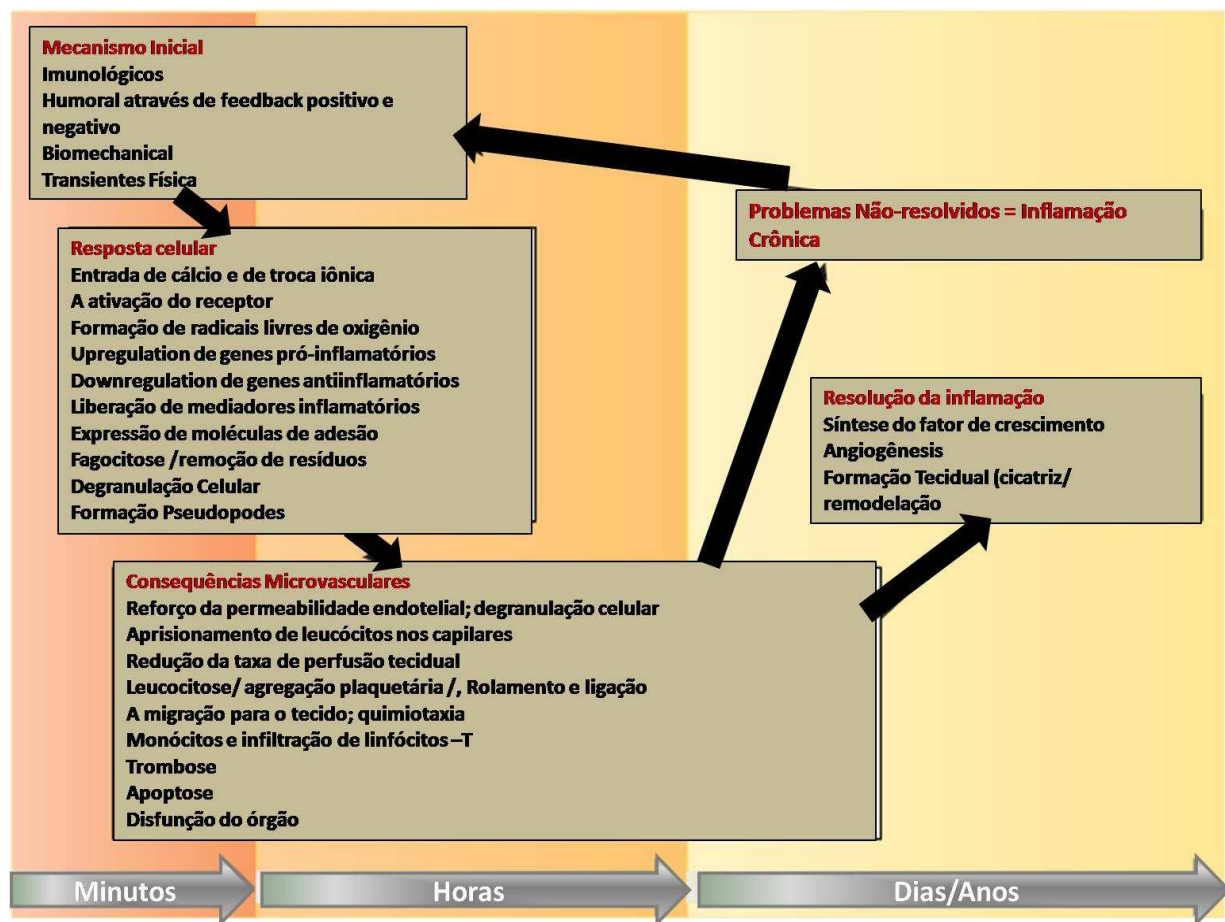


Figura 5. Cronograma esquemático das etapas da cascata inflamatória que pode levar a resolução e reparação final da lesão inicial que sobre a influência da estimulação contínua, progride em uma cascata inflamatória crônica. (Adaptado Schonbein, 2006).

O exsudato inflamatório, conseqüente do aumento da permeabilidade vascular, composto de proteínas plasmáticas e leucócitos que extravasam dos vasos e se acumulam no local inflamado. Tem a função de destruir o agente agressor, degradar (liquefazer) e remover o tecido necrosado. A drenagem linfática fica aumentada, levando mais facilmente antígenos aos linfonodos regionais. Dependendo do local, da intensidade da reação e do agente injuriante, o exsudato pode ter diferentes características, podendo ser seroso, fibrinoso, mucoso, purulento e hemorrágico (MORAES, 1992; RIBEIRO et al., 1976; BECHARA, 1987).

Em condições normais, os elementos figurados do sangue circulam no centro da corrente e somente o fluido está em contato com o endotélio (EVAN et al., 1970). Na inflamação, ocorre uma modificação, os leucócitos assumem orientação periférica, principalmente neutrófilos, ao longo do endotélio vascular, processo denominado de marginação leucocitária. Os leucócitos se aderem à parede endotelial, primeiro de forma transiente, depois mais avidamente; logo depois, migram ativamente através de diapedese pela parede do vaso, por entre junções interendoteliais, em direção ao espaço extravascular. Hemácias também migram, porém de forma passiva, aproveitando a saída dos leucócitos (PÉREZ-TAMAYO, 1987; BECHARA, 1987). Uma vez fora, os leucócitos migram pelo interstício para o local da lesão. Esta migração dirigida é a consequência da presença no foco inflamatório de substâncias quimiotáticas (mediadores químicos da inflamação) e esse fenômeno é denominado quimiotaxia (EVAN et al., 1970; GARY et al., 1983).

A inflamação é dividida em padrões agudo e crônico, segundo a idade, duração ou tempo de evolução do processo. Do ponto de vista morfológico, nas inflamações agudas predominam os fenômenos exsudativos, enquanto que nas crônicas predominam os produtivos (MONTENEGRO et al., 2004). A inflamação aguda é de curta duração, de alguns minutos, horas ou um a dois dias, dependendo do estímulo causal, e suas principais características é a exsudação de fluidos e proteínas do plasma e emigração de leucócitos, predominantemente neutrófilos (KLUFT et al., 2002). A inflamação aguda pode ter quatro tipos de evolução: Resolução (tudo volta ao normal com a eliminação do agente agressor); Cicatrização (há reparação de tecido destruído); Formação de abscesso (quando agentes piogênicos se instalam nas profundidades dos tecidos); e finalmente, pode progredir para Inflamação Crônica, o que ocorre quando o agente não é eliminado pelo processo inflamatório agudo. A inflamação crônica é menos uniforme, de duração mais longa, que pode ser de semanas a meses; é associada histologicamente com a presença de linfócitos e macrófagos e com a proliferação de vasos sanguíneos (neoangiogênese) e do tecido conjuntivo (fibroplasia) (MARTINDALE et al., 2007; KLUFT et al., 2002).

1.5.1 Agentes antiinflamatórios

A reação inflamatória é um mecanismo de proteção do organismo contra agentes ofensores ou traumas, no entanto, em certas circunstâncias, essa resposta defensiva pode ser dirigida de forma inadequada a substâncias externas ou a tecidos do próprio organismo, podendo então a própria resposta produzir danos. Nestas condições pode ser necessária a utilização de drogas antiinflamatórias. Os agentes antiinflamatórios são divididos em dois grupos distintos, de acordo com seu mecanismo de ação, os antiinflamatórios não-esteróides (AINEs, ou em inglês, NSAID – nonsteroidal antiinflammatory drugs) e as drogas antiinflamatórias esteroidais (SAID – steroidal antiinflammatory drugs) (WANNMACHER et al., 2004a).

Os glicocorticóides são potentes mediadores antiinflamatórios endógenos que são liberados em poucos minutos na resposta ao estresse e a lesão tecidual como mecanismo de controle da severidade da resposta inflamatória (GILROY et al., 2004). Os glicocorticóides desempenham um papel importante na atenuação da resposta inflamatória. Esses hormônios esteróides são capazes de induzir apoptose em células do sistema hematopoiético, como monócitos, macrófagos e linfócitos T que estão envolvidas na reação inflamatória. (AMSTERDAM et al., 2002). Estes hormônios inibem a transcrição de várias citocinas importantes para a resposta imune e/ou inflamatória, como interleucinas, TNF α e fator estimulador de colônias de macrófagos-granulócitos, além de inibirem a ação dessas citocinas sobre fatores transcricionais, como proteína ativadora-1 e o fator nuclear κ B (NF- κ B). O conjunto destas atividades é considerado como responsável pela atividade imunossupressora dos glicocorticóides (BARNES et al., 1993).

Os glicocorticóides sintéticos (betametasona, dexametasona, cortisona, etc.) mimetizam ações do cortisol endógeno, atuando através da ligação a um receptor citoplasmático específico para glicocorticóides. São os mais eficazes antiinflamatórios disponíveis, apresentando ainda ação imunodepressora. Promovem melhora sintomática de uma série de manifestações clínicas, sem afetar a evolução da doença básica. Ao lado dos esperados benefícios, há risco de potenciais efeitos adversos, observados numa variedade de tecidos orgânicos, na dependência de doses empregadas e, sobretudo, da

duração do tratamento (MARGIORIS et al., 1997; WANNMACHER et al., 2004b; HOWLAND et al., 2006).

Uma das formas pela qual os glicocorticóides inibem a produção de Prostaglandinas (PGs) é por meio da indução da síntese de lipocortina (ou anexina-1), que por sua vez atuam inibindo a fosfolipase A2, a enzima que converte fosfolípidos de membrana em ácido araquidônico (OSTENSEN, 1998; SIMON, 1999; FLOWER et al., 1994). Além disto, os glicocorticóides também inibem a expressão gênica desta enzima (NAKANO et al., 1990). O ácido araquidônico é o substrato da enzima COX, que catalisa a síntese de PGH_2 , o precursor comum das PGs, tromboxanas e prostaciclina. Essas PGs têm um papel fundamental em diversos processos fisiológicos e patofisiológicos incluindo inflamação, reprodução, nocicepção e proteção gastrointestinal (GOODWIN, 1989; MARNETT et al., 1999). A síntese da COX-2 cuja expressão é induzida por estímulos inflamatórios, é inibida por glicocorticóides (GOPPELT-STRUEBE et al., 2000; O'BANION et al., 1992; MASFERRER et al., 1992; MASFERRER et al., 1994), sendo que este efeito dos glicocorticóides não está associado à produção de anexina-1 (NEWMAN et al., 1994). Os glicocorticóides exógenos inibem a expressão da COX-2, inibindo a transcrição do gene relevante, reduzindo a geração de prostanóides nas células inflamatórias, porém exercem pouco ou nenhum efeito sobre a enzima constitutiva COX-1 (SIMON, 1999). Conseqüentemente possuem:

1. Ação antiinflamatória: ocorre uma diminuição da vasodilatação e do edema;
2. Ação analgésica: a redução das citocinas e das PGs significa menor sensibilização de terminações nervosas nociceptivas;
3. Diminuição da migração dos leucócitos ao foco inflamatório (inibição da síntese de IL-1, TNF- α , LTB₄, moléculas de adesão, etc).

Outra classe de fármacos, semelhantes aos glicocorticóides utilizados na terapêutica inflamatória, são os agentes antiinflamatórios não-esteróides, os AINE's. Os AINEs exercem suas atividades analgésicas, antipiréticas e antiinflamatórias por inibirem a síntese de PGs (VANE & BOTTING, 1998). As PGs participam de diversos processos fisiológicos e patofisiológicos, incluindo inflamação, reprodução, nocicepção e proteção gastrointestinal. A síntese de PGs (**Figura 7**) inicia-se com a liberação de ácido araquidônico (AA) livre de fosfolípidos de membrana, e a reação é catalisada

pela ativação enzimática da fosfolipase A₂ (PLA₂). A liberação do AA livre é seguida pela conversão em PGG₂ pela ação da ciclooxygenase (COX), e depois em PGH₂ pela atividade da peroxidase. A PGH₂ participa da formação de todas as PGs, incluindo tromboxano A₂ (TXA₂), PGD₂, PGE₂, PGF_{2α} e PGI₂, pela ação de enzimas específicas e individuais a cada uma delas. As PGs estão envolvidas na regulação da contratilidade dos músculos lisos bem como na regulação da pressão sanguínea, agregação plaquetária e ainda como mediadores da dor, edema (vasodilatação) e febre (LEE et al., 2003).

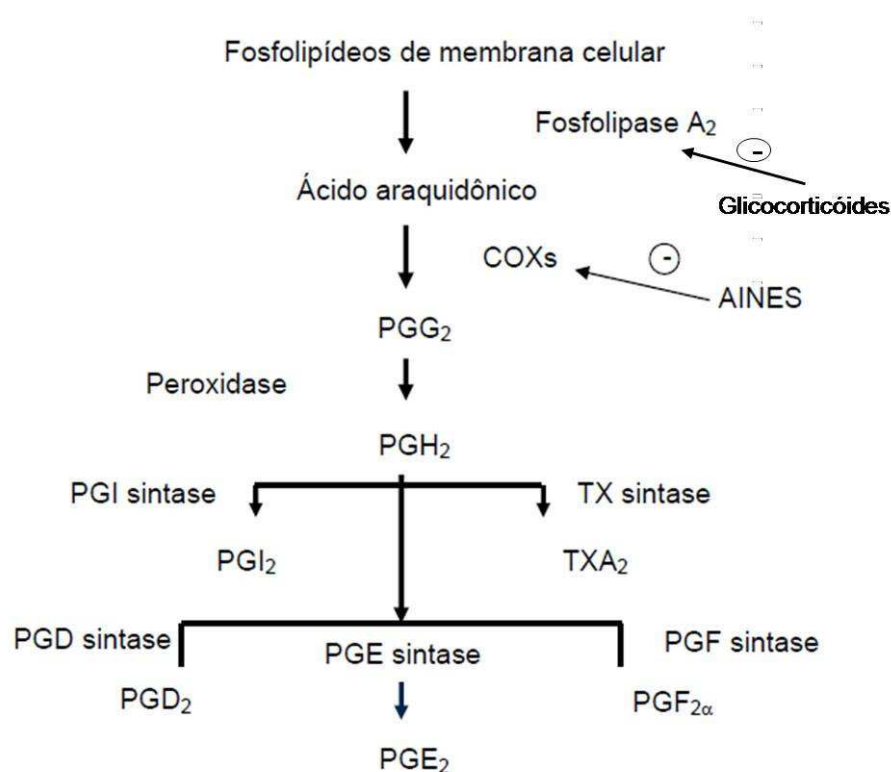


FIGURA 7: Esquema representativo da formação de prostaglandinas pela COX. Adaptado de Chandrasekharan & Simmons (2004) e Lee et al. (2003).

Como citado anteriormente, há dois tipos de COX, denominadas COX-1 e COX-2. A COX-1 é a enzima expressa constitutivamente na maioria dos tecidos, responsável por várias funções fisiológicas, como proteção da mucosa gástrica, agregação plaquetária, manutenção do fluxo sanguíneo renal e da homeostase vascular (MERLIE et al., 1988). A COX-2, que não está normalmente expressa e pode ser induzida por estímulos incluindo a exposição a fatores de crescimento, citocinas, promotores de

tumor carcinogênicos e endotoxinas (JONES et al., 1993). Ou seja, a COX-2 é encontrada em células inflamatórias ativadas, sendo esta a enzima que produz os metabólitos do AA durante uma inflamação (FENG et al., 1995).

A inibição da atividade da COX é realizada pelos AINEs, exercendo efeitos analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios (SIMMONS et al., 2004). Muitos AINEs são inibidores de ambas as isoenzimas, mas os efeitos antiinflamatórios estão relacionados com a inibição da COX-2 e os efeitos colaterais mais conhecidos se devem principalmente à inibição da COX-1 (HAWKEY, 2001).

Assim, os AINES possuem três ações principais pela diminuição de síntese de PGs e tromboxanos, com a inibição da COX-2:

1. Ação antiinflamatória: ocorre uma diminuição da vasodilatação e indiretamente do edema, pela redução da síntese de PGs.
2. Efeito analgésico: a redução das PGs significa menor sensibilização de terminações nervosas nociceptivas.
3. Efeito antipirético: redução da temperatura, mais uma vez influenciada pela diminuição de PGs no hipotálamo (PGs do tipo E) (RANG et al., 2004).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar atividade antiinflamatória e antinociceptiva do extrato alcoólico e de flavonóides isolados da entrecasca de *Sebastiania jacobinensis* (MUIILL. ARG.) MUIILL. ARG, além de determinar sua toxicidade aguda.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Obter o extrato alcoólico utilizando a entrecasca de *S. jacobinensis*;

2.2.2 Avaliar a composição fitoquímica do extrato alcoólico;

2.2.3 Isolar o flavonóide da entrecasca de *S. jacobinensis* através da cromatografia de troca iônica em coluna de DEAE-celulose;

2.2.4 Determinar a toxicidade aguda no extrato alcólico da entrecasca de *S. jacobinensis*;

2.2.5 Avaliar atividade antiinflamatória das preparações contendo flavonóides obtidos da entrecasca de *S. jacobinensis* através do modelo migração celular em Peritonite induzida por carragenina;

2.2.6 Avaliar a atividade analgésica das preparações contendo flavonóides obtidas da entrecasca de *S. jacobinensis* utilizando do modelo de nocicepção induzida por ácido acético.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMSTERDAM, A., SASSON, R., The anti-inflammatory action of glucocorticoids is mediated by cell type specific regulation of apoptosis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 189, p. 1-9, 2002.

BALADRIN, M.F.; KLOKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLINGE, W.H. Natural plant chemicals. Source of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, p. 1054-1060, 1985.

BARNES, J.; ADCOCK, I. Anti-inflammatory actions of steroids: molecular mechanisms. **Trends Pharmacol. Sci**, v.14, p.436-40, 1993.

BARNES, J., ANDERSON, L.A., PHILLIPSON, J.D., St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties, **J. Pharm. Pharmacol.** v.53, p. 583–600, 2001.

BECHARA, G.H. Revisão: Dez anos de história sobre o fator proinflamatório de linfócitos (FpIL). **Comun. cient. Fac. Med. Zootec.** Univ. S. Paulo, 11:49-52, 1987.

BESSON, P, PERL, E.R., Responses of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. **J Neurophysiol.** v. 39, p. 1025-43, 1969.

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

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

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

BROOKS, J.; TRACEY, I. From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways. **Journal of Anatomy**, v. 207, p. 19-33, 2005.

BROWN, R. S.; BOTTOMLEY, W. K. The utilization and mechanism of action of tricyclic antidepressants in the treatment of chronic facial pain: a review of the literature. **Anesthesia Progress**, 37, p. 223-229, 1990.

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

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

CHAN, T., GALATI, G., O'BRIEN, P.J., Oxygen activation during peroxidase catalysed metabolism of flavones or flavanones, **Chem. Biol. Interact.** v. 122 p. 15-25, 1999.

CARVALHO, P. E. R. Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; Centro Nacional de Pesquisa de Florestas - Colombo: EMBRAPA - CNPF; Brasília: EMBRAPA - SPI**, 640pg, 1994.

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

CHI, Y.S., JONG, H.G., SON, K.H., CHANG, H.W., KANG, S.S., KIM, H.P., Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases. **Biochemical Pharmacology** v.62, p.1185-1191, 2001.

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

COLLIER, H.O.J., DINNEEN, L.C., JOHNSON, C.A., SCHNEIDER, C.. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British Journal of Pharmacology** v.32,p. 295-310, 1968.

CORRÊA, M. P. Dicionário de Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. **Ministério da Agricultura; Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal**, 1984.

DI CARLO, G., MASCOLO, N. LZZO, A.A., CAPASSO,F., Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, **Life Sciences**, v.65. n 4. p. 337-353. 1999.

DI STASI, L. C. **Plantas Medicinais: Arte e Ciência**. Ed. UNESP. Brasil. 230p, 1995.

DIXON, R.A., HARRISON, M.J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants, **Adv. Genet.** V.28, p.165-234, 1990.

DIXON, R.A., STEELE, C. Flavonoids and isoflavonoids-gold mine for metabolic engineering, **Trends Plant Sci.** v. 4 p. 394-400, 1999.

DUARTE, J., PEREZ-PALENCIA, R., VARGAS, F., OCETE, M.A. , PEREZ-VIZCAINO, F., ZARZUELO, A., TAMARGO, J., Antihypertensive effects of flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats, **Br. J. Pharmacol.** v.133, p. 117–124, 2001.

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

EVAN, M.; HERSH, M.D.; GERALD P.; BODEY, M.D., Leukocytic Mechanisms In Inflammation. **Annu. Rev. Med.** Vol. 21, pp. 105-132. 1970.

FEHER, M.; SCHMIDT, J. M. Property distributions: differences between drugs, natural products and molecules from combinatorial chemistry. **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 43, p. 218-27. 2003;

FENG, L.; XIA, Y.; GARCIA, G. E.; HWANG, D.; WILSON, C. B. Involvement of reactive oxygen intermediates in cyclooxygenase-2 expression induced by interleukin-1, tumor necrosis factor- α , and lipopolysaccharide. **J. Clin. Invest**, v. 95, p.1669-1675, 1995.

FERGUSON, L.R., Role of plant polyphenols in genomic stability, **Mutat. Res.** V.475 p.89–111, 2001.

FERREIRA, M. B. C.; HIDALGO, M. P. L.; CAUMO, W. Analgésicos opióides. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. (editores). **Farmacologia clinica: fundamentos da terapeutica racional**. 3º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 229-235, 2004.

FERRER-BRECHNERT, T., GANZ, P. Combination therapy with ibuprofen and methadone for chorinic câncer pain. **Am J Med** v. 77, p. 78-73, 1984.

FEUERSTEIN, M.; HICKEY, P. F. Ergonomic approaches in the clinical asessment of occupational musculo eskeletal disorders. In: TURK, D. C.; MELZACK, R. (editors). **Handbook of pain assessment**. New york: the guilford press, p. 71-99, 1992.

FILHO, A. W. ; FILHO V.C. ;OLINGER L. ; De SOUZA M.M. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action. **Arch Pharm Res.** v.6, p.713-21., 2008.

FLORA BRASILIENSIS, **A obra**; Vol 11 Part 2 pag. 589, 2001.

FLOWER, R. J.; ROTHWELL, N. J. Lipocortin-1: cellular mechanisms and clinical relevance. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 15, p. 71-76, 1994.

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

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

GARY L. L., HENSON, P.H., Mediators of inflammation. **Annu. Rev. Immunol.** Vol 1. pp. 335-359, 1983

GILROY, D. W., LAWRENCE, T., PERRETTI, M., ROSSI, A. G. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. **Nat. Rev. Drug Discov.**, v. 3, p.401-416, 2004.

GOODWIN, J. S. Immunomodulation by eicosanoids and anti-inflammatory drugs, **Curr. Opin. Immunol**, v. 2, p. 264-268, 1989.

GOPPELT-STRUEBE, M.; REHM, M.; SCHAEFERS, H. J.; Induction of cyclooxygenase-2 by platelet-derived growth factor (PDGF) and its inhibition by dexamethasone are independent of NF-kappaB/IkappaB transcription factors, v. 361(6), p. 636-645, 2000.

GOTTLIEB, O. R.; KAPLAN, M. A.; BORIN, M. R. M. B. **Biodiversidade: um enfoque químico-biológico**. Rio de Janeiro: Editora UFRJ; 1996.

HARAGUCHI, H., TANIMOTO, K., TAMURA, Y., MIZUTANI, K., KINOSHITO, T., Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inata*. **Phytochemistry**. v. 48, p. 125±129, 1998.

HAVSTEEN, B.H., The bioactivity and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology and Therapeutics** v. 96,p. 67–202, 2002.

HAWKEY,C. J. COX-1 and COX-2 inhibitors. **Best Pract & Res Clin Gastroenterol**, v. 15(5), p. 801-820, 2001.

HERSH, E. M. . BODEY, G. P., Leukocytic Mechanisms In Inflammation. **Annu. Rev. Med.** v. 21, p. 105-132. 1970.

HODEK, P., TREFIL, P. STIBOROVA, M., Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450, **Chemicol-Biological Interactions**. v. 139, p. 1–21, 2002.

HOWLAND, R. D.; MYCEK, M. J. **Lippincott's illustrated reviews: pharmacology**. 3. ed. Baltimore, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. 552 p.

IBGE. Mapa de vegetação do Brasil. Escala 1:50.000. **Ministério da Agricultura/IBDF**, 1988.

INSEL, P.A. Analgesic. Antipyretes and antinflammatory agents; drugs empolyed inthe treatment of rheumatoid arthritis and gout. **The Pharmacological Basics of therapeutics**. 8 ed. New York, Pergamon Press, pp. 638-81, 1990.

JONES, D. A.; CARLTON, D. P.; McINTYRE, T. M.; ZIMMERMAN, G. A.; PRESCOTT, S. M. Molecular cloning of human prostaglandin endoperoxide synthase type II and demonstration of expression in the response to cytokines, **J. Biol. Chem.**, v. 268, p. 9049-9054, 1993.

LEE, J. L.; MUKHTAR, H.; BICKERS, D.R.; KOPELOVICH, L.; ATHAR, M. Cyclooxygenase in the skin: pharmacological and toxicological implications **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 192, p. 294-306, 2003.

LIN, Y.M., ANDERSON, H., FLAVIN, M.T., PAI, Y.H.S.,. In vitro anti-HIV activity of biflavonoids from *Rhus succedanea*. **Journal of Natural Products**. v. 60, p. 884±888, 1997b.

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

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

KIM, H.J., WOOD, E.R., SHIN, C.G., PARK, H., A new flavonol gallate ester from *Acer* and its inhibitory activity against HIV-1 integrase. **Journal of Natural Products** . v.61, p. 145±148, 1998.

KLUFT, C.; MAAT, M. P. M. Sensitive markers of inflammation make it possible to study the chronic process: the rise of interest in low levels of C-reactive protein. **Vascular Pharmacology**, v. 39, p. 99-104, 2002.

KUMMER, V. J. , ANDERLE, J. C., Estrogenic effect of silymarin in ovariectomized rats, **Vet. Med. Czech**. v.46, p. 17–23, 2001.

MACFARLANE, B. V.; WRIGHT, A.; CALLAGHAN, J.; BENSON, H. A. E. Chronic neuropathic pain and its control by drugs. **Pharmacology & therapeutics**, 75, p. 1-19, 1997.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR., V. F.; MARTINS, J. R.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A.; LAPA, A. J.; VANDERLINDE, F. A.; Phytochem. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 8, p. 460, 2002.

MARGIORIS, A. N.; GRAVANIS, A.; CHROUSOS, G. P. Glicocorticóides e mineralocorticóides. In: BRODY, T. M.; LARNER, J.; MINNEMAN, K. P.; NEU, H. C. **Farmacologia humana: da molecular à clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 421-429.

MARNETT, L. J.; ROWLINSON, S. W.; GOODWIN, D. C.; KALGUTKAR, A. S.; LANZO, C. A.; Araquidonic acid oxygenation by COX-1 and COX-2: mechanism of catalysis and inhibition. **J. Biol. Chem.**, v. 274, p. 22903-22906, 1999.

MARTINDALE, J.C.; WILSON, A. W.; REEVE, A. J.; CHEESSELL, I. P.; HEADLEY, P. M. Chronic secondary of dorsal horn neurons following inflammation of the knee joint. **Pain**, v. 133, p. 79 – 86, 2007.

MASFERRER, J. L.; SEIBERT, K.; ZWEIFEL, B.; NEEDLEMAN, P. Endogenous glucocorticoids regulate an inducible cyclooxygenase enzyme. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 89, p. 3917-3921, 1992.

MASFERRER, J. L.; REDDY, S. T.; ZWEIFEL, B.; SEIBERT, K.; NEEDLEMAN, P. GILBERT, R. S.; HERSCHMAN, H. R. In vivo glucocorticoids regulate cyclooxygenase-2 but not cyclooxygenase-1 in peritoneal macrophages. **J. Pharmacol. Exper. Therap**, v. 270 (3), p. 1340-1344, 1994.

MANTHEY, J.A., Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation ,microcirculation. v. 6 p. S29–S34, 2000.

MCQUAY, H. J. Neuropathic pain: evidence matters. **European Journal of Pain**, 6 (suppl.), p. 11- 18, 2002.

MERLIE, J. P.; FAGAN, D.; MUDD, J.; NEEDLEMAN, P. Isolation and characterization of the complementary DNA for sheep seminal vesicle prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase), **J. Biol. Chem**, v. 263, p. 3550-3553, 1988.

MERSKEY H, ALBE-FESSARD DG, BONICA JJ, CARMON A, DUBNER R, KERR FWL, LINDBLOM U, MUMFORD JM, NATHAN PW, NOORDENBOS W, PAGNICA, RENAER MJ, STERNBACH RA, SUNDERLAND S,. Pain terms: alist with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP subcommittee on Taxonomy. *Pain* v. 6, p. 249-52, 1979.

MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C.. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews** v.52, p.673–751, 2000

MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. **Desenvolvimento de Fitoterápicos**. São Paulo: Robe Editorial, 2000.

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

MONTENEGRO, M. R.; FRANCO, M.; **Patologia: Processos Gerais**. Brasil. p. 109 Editora Atheneu. 4 ed. 2004.

MORAES, F.R. Modelos Experimentais Aplicados à Patologia. Apostila, Pós-Graduação em Patologia Animal, FCAVJ-UNESP, pp. 01-05, 1992.

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

NAKANO, T.; ARITA, H. Enhanced expression of group II phospholipase A2 gene in the tissues of endotoxin shock rats and its suppression by glucocorticoid. **FEBS L.**, v. 273 (1/2), p. 23-26, 1990.

NATHAN I.; CHEMY, M.B.B.S; FOLEY, K.M; Nonopioid and opioid analgesic pharmacotherapy of cancer pain. **Hematology/Oncology Clinics Of North America**. Vol 10, pp. 79-102, 1996.

NEWMAN, S. P.; FLOWER, R. J.; CROXTALL, J. D. Dexamethasone suppression of IL-1 β -induced cyclooxygenase 2 expression is not mediated by lipocortin-1 in A549 cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 202(2), p. 931-939, 1994.

O'BANION, M. K.; WINN, V. D.; YOUNG, D. A. cDNA cloning and functional activity of a glucocorticoid-regulated inflammatory cyclooxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 89, p. 4888-4892, 1992.

OMOIGUI, S. The Pain drugs Handbook, St Louis, Mosbi, p. 603, 1995.

OSTENSEN, M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs during pregnancy. **Scandinavian Journal of Rheumatology Supplement**, v.107, p.128-132, 1998.

PRADO, W. A. Neurofisiologia e neuroquímica da dor aguda e crônica. In: ANDRADE FILHO, A. C. C. (editor). **Dor: diagnóstico e tratamento**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2001. p. 1-5.

PATT, R.B. Control of pain associated with advanced malignancy. In: Aronoff GM (ed). **Evaluation and Treatment of chronic Pain**. 2 Ed. Baltimore, Williams & Wilkins, pp. 313-39, 1992.

PEREIRA, A. S.; AMARAL, A. C. F.; BARNES, R. A.; CARDOSO, J. N.; AQUINO NETO, F. R.; **Phytochem. Anal.**, 10, 254, 1999.

PÉREZ-TAMAYO, R. Introducción a la Patología. **Mecanismos de la Enfermedad**. Editorial Medica Panamericana, 2ª edición. Buenos Aires, pp. 191-198, 1987..

PERISSINOTTI, D. M. N. Dor psicogênica. In: TEIXEIRA, M. J.; FIGUEIRÓ, J. A. B. **Dor: epidemiologia, fisiopatologia, avaliação, síndromes dolorosas e tratamento**. São Paulo: Grupo Editorial Moreira Jr., 2001. p. 82-85.

PETERSON, J.M.S, DWYER, J.DSC, RD, Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity, **Nutrition Research**, v. 18. n. 12. p. 1995-2018, 1998

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants, **J. Nat. Prod.** v.63, p.1035–1042, 2000.

PHILLIPSON, G. W.; ANDERSON, A. C. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 25, p. 61.1998.

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

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

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. Ed. Guanabara Koogan, Brasil, p. 189, 2004.

RANG, H.P, DALE M.M., **Phamacology**, Edinburgh, Chrurchill Livingstrone, p. 955, 1991

RIBEIRO DOS SANTOS, R., GARCIA LEME, J., FERREIRA, S.H., BECHARA, G.H., SUDO, L.S. Does the pro-inflammatory factor in lymphocytes (LpIF) explain the role of these cells in acute inflammation? *Agents and Actions*, 6:690-693, 1976.

SÁNCHEZ-MATEO, C.C. ; BONKANKA, C.X.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, P.; RABANAL, R.M. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. **Journal of Ethnopharmacology** v.107, p. 1–6, 2006.

SANDERSON, J., MCLAUCHLAN, W.R. , WILLIAMSON, G. , Quercetin inhibits hydrogen peroxide-induced oxidation of the rat lens, *Free Radic. Biol. Med.* v.26, p.639–645, 1999.

SCHONBEIN, G. W. S. Analysis of Inflammation. **Annu. Rev. Biomed. Eng.**Vol. 8, pp. 93-151, 2006.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2. ed. Barueri: Manole. 816 p, 2003.

SIMMONS, D. L.; BOTTING, R. M.; HLA, T. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition, **Pharmacol. Rev.**, v. 56, p. 387-437, 2004.

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

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao Medicamento**. Florianópolis: UFSC & UFRS, 1999.

SIMON, L.S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. **American Journal of Medicine**, v.106, n.5B, p.37-42, 1999.

SMITH, C. M. Opioid analgesics – agonists and antagonists. In: SMITH, C. M.; REYNARD, A. M. **Textbook of pharmacology**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1992a. p. 226-250.

SOEJARTO, D. D. Biodiversity prospecting and benefit sharing : perspectives from the field. **Journal of Ethnopharmacoly**. v.51, 1996.

SOUZA, G. M. L.; CARVALHO, E. B.; CATANHO, M. T. J. A. Interaction Of The Product Mulher Ativa® On The Labeling Of Red Blood Cells And Plasma Proteins With Technetium- 99m. **Journal of Food Technology**, V.3, n.3, p. 417-422. 2005.

STEPP, J. R. The role of weeds sources of pharmaceuticals. **Journal of ethnopharmacology**, V.92, p. 163-166, 2004.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Patologia**. 2 ed. Barueri: Manole, 655 p, 2002.

STEVENSON, P.C., HAWARE, M.P., Maackiain in Cicer bijungum associated with resistance to Botrytis. **Biochemical Systematics and Ecology**. v.27,p. 761±767, 1999.

TEIXEIRA, M. J. Fisiologia da dor. In: TEIXEIRA, M. J. **Dor tratamento farmacológico da dor**. São Paulo: Editora Maio, p. 47-77, 1999^a.

TEIXEIRA, M. J.; FIGUEIRÓ, J. A. B. **Dor: epidemiologia, fisiopatologia, avaliação, síndromes dolorosas e tratamento**. São Paulo: Grupo editoria moreira Jr., p. 14-40, 2001b.

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

TURK, D. C.; MELZACK, R. **The measurement of pain and the assessment of people experiencing pain. Handbook of pain assesment**. New York London: The Guilford Press, 1992, p. 3-12.

VANE, J. R. & BOTTING, R. M., Mechanism of action of nons-steroidal anti-inflammatory drugs. **Amm. J. Med.**, v. 104(3A), p. 2S-8S, 1998.

VAZ, A. F. M.; Costa, R.M.P.B.; Melo, A.M.M.A.; Oliva, M.L.V.; Santana, L.A.; Silva-Lucca, R.A.; Coelho, L.C.B.B.; Correia, M.T.S.; Biocontrol of Fusarium species by a novel lectin with low ecotoxicity isolated from Sebastiania jacobinensis. **Food Chemistry**. v. 119, p. 1507–1513, 2010.

VEIGA JR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Quimica Nova**, V. 28, No. 3, p. 519-528, 2005.

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

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

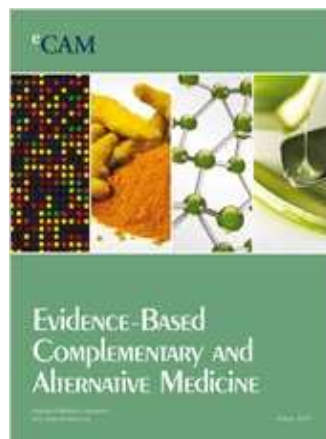
WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. Principios gerais no tratamento da inflamação. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. (editores). **Farmacologia clínica: fundamentos da terapeutica racional**. 3. Ed. Rio de Janeiro: guanabara Koogan, p. 294-295, 2004a.

WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. Antiinflamatórios esteróides. In: FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. C. (editores). **Farmacologia clínica: Fundamentos da terapêutica racional**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004b. p. 307-322.

WATSON, L. e M.J. DALLWITZ in Euphorbiaceae. **The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, Information Retrieval**, (1992 onwards).

WOOLF, C. J.; MARNION, R. J. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. **Lancet**, 353, p. 1959-1964, 1999.

4 . ARTIGO A SER SUBMETIDO À PUBLICAÇÃO



Revista: Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine

Fator de impacto: 2.06 (2010)

Website: <http://www.hindawi.com/journal/ecam>

**ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND ANTINOCICEPTIVE OF FLAVONOIDS
ISOLATED FROM *Sebastiania jacobinensis***

A. K. S. F. Silva^a, S. N. Silva^a, A. F. M. Vaz^a, L. C. B. B. Coelho^a, T. G. Silva^b, H. S. Xavier^c, M. T. S. Correa^{a,*}

^aDepartamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife – PE – CEP: 50670-901, Recife, PE.

^bDepartamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife – PE – CEP: 50670-901, Recife, PE

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife – PE – CEP: 50670-901, Recife, PE

*Corresponding author: Tel: +55-81-2126.8540; Fax: +55-81-3271.8354; E-mail address: terezacorreia@hotmail.com

Abstract

Since ancient times humans use plants for therapeutic purposes. In this context we have to search for new drugs of natural origin and with lower side effects. *Sebastiania jacobinensis* is a plant widely used in folk medicine by native region of northeastern Brazil, where it is widespread. An evaluation of phytochemical alcoholic extract (EA) of this plant and there was a large presence of flavonoids. These were isolated on DEAE-cellulose chromatography and subjected to an antiinflammatory and antinociceptive activity. Results showed an inhibition of inflammation of 61.10% and 54.14% for EA and the flavonoid, (100 mg/kg of animal) respectively. Analgesic studies revealed 58.33% and 68.47% at doses of 25 mg/kg of both EA and to the flavonoid, reaching 71% for EA at a concentration of 100mg/kg. The results of the existence of a great antiinflammatory and antinociceptive effect when compared with drugs already in use, thus confirming the popular belief in the use of this plant against infection and in cases of hypersensitivity.

Keywords: *Sebastiania jacobinensis*; flavonoids; antiinflammatory; analgesic.

1 Introduction

In recent years there was a steady increase in the study of plants recommended by folk medicine. The use of modern pharmacology, biochemistry, toxicology and molecular biology have renewed interest in finding new drugs or prototypes of new drugs from natural products (Calixto, 2000; Calixto, 2001). In this context, we can say that flavonoids are responsible for many of the benefits of plants for traditional medicine, because they are the secondary metabolites that are widely distributed in the plant kingdom. Flavonoids represent one of the most important phenolic groups and varied between the products of natural origin (Simões, 1986). Some studies have attributed to flavonoids a wide range of pharmacological activities, among them, it is worth the diuretic, antispasmodic, anti-inflammatory, antibacterial and others. (Viswanathan, 1984; Emimas, 1994).

Sebastiania jacobinensis Müll. Arg. (Family Euphorbiaceae) is a common tree found in tropical regions of Brazil. It is widely used tapir is popularly used against infections and cases of hypersensitivity. Recently, Vaz et al. (2010) purified a lectin from the bark with great potential antifungal. The objective of this study was to evaluate the phytochemical composition of the alcoholic extract and determine the antinociceptive and antiinflammatory activity of alcoholic extract and flavonoids isolated from the bark of *Sebastiania jacobinensis*.

2 Materials and methods

2.1 Plant material

Flour bark of *S. jacobinensis*, properly washed, dried at room temperature and crushed on multiprocessor. The bark was collected in the municipality of Arcoverde-PE, located at latitude 08 ° 25'08 "south and longitude 37 ° 03'14" west, with an altitude of 663 meters.

2.2 Preparation of Extract

The extract (EA) were prepared at a concentration of 10% (w/v) of flour in the bark of *S. jacobinensis* alcohol solution containing 5% Acetic Acid, 15% distilled water and 70% absolute ethanol for 2 h at 4 °C under constant agitation. Then the extract was filtered through gauze and then submitted to evaporation with the aid of a rotaevaporador. The residue was resuspended in 15 mL of alcohol 70%.

2.3 Evaluation phytochemical

Aliquots of EA (15 μ L) were subjected to thin layer chromatography (CCDA) plates ready (Silica gel Merk-Germany). Using different systems development and revealing appropriate for the determination of alkaloids, polyphenols (cinnamic derivatives, coumarins, glycosides fenilpropanosídeos, condensed proanthocyanidins, leucoantocianidinas, hydrolyzable tannins, gallic acid and flavonoids) and terpenoids (monoterpenes, sesquiterpene, diterpenoids, triterpenoids, steroids, iridoids and gallic acid) (Stiasy, 1912; Robertson, 1956; Neu, 1956; Markhan, 1982; Harbone, 1991; Wagner, 1996; Xavier, 2002)

2.4 Isolation of Flavonoids

The alcoholic extract was subjected to chromatography on DEAE-cellulose (5.0 x 1.0 cm), which was developed in 70% alcohol. A sample of 15 ml of the extract is applied to the support. After washing in 70% alcohol was performed eluting the adsorbed flavonoids with a solution of 10% acetic acid, 10% distilled water and 80% of absolute ethanol. The conditions of chromatography were: flow of 20 ml/h, fractions of 2 ml at room temperature (25 ° C).

2.5 Animals

In experiments were used Swiss albino female mice (*Mus musculus*), aged approximately two months and weighing 25 ± 5 grams. We used six animals per experimental group. The animals were obtained from the laboratory of the Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco (UFPE) and kept under constant conditions (temperature: 22 ± 2 ° C, humidity: 40-60%, light / dark cycle of 12 hours, with food and water ad libitum). The experiments were conducted in accordance with the standards approved by the Ethics Committee for Animal Experiments of UFPE (Case No. 23076.012116/2009-50).

2.6 Acute Toxicity

The mice were divided into groups of 08 animals. They were then orally administered the test substances at a dose of 2000mg/kg. The Acute Toxicity was observed in animals with free movement, on a flat surface, for an initial period of 60 minutes. After this period, the animals will still be observed for 24 hours remain for 14 days to record the death rate of each group.

2.7 Essays inflammatory - Evaluation of Cell Migration in carrageenan-induced peritonitis

The animals were pretreated orally with the test substances (extract and flavonoids in concentrations 25, 50, 100 mg /kg) with saline (control), dexametazon (2 mg / kg), piroxicam

(3 mg / kg) and indomethacin (10 mg / kg) one hour before induction of peritonitis. After this period the animals receive intraperitoneal, 0.25 ml of carrageenan (1%). After 4 h, the animals are sacrificed by CO₂ chamber and immediately underwent surgery to open the abdomen (Gupta et al., 2005), and peritoneal cavity is washed with 2 ml of saline with EDTA and the liquid is collected. The differential count of the PMLN in the exudates collected from the wells will be done in a Neubauer chamber under optical microscope after dilution of the sample in liquid Türk.

2.8 Nociception Induced by Acetic Acid

The response to intraperitoneal injection of acetic acid solution expressing muscle contractions of the abdomen and stretch the back of the body were assessed using adaptations of the method of Young et al. (2005). Animals (8 per group) are pre-treated by the drug in question. 1 h later is given a solution of acetic acid in the volume of 1% of the weight of the animal. Waits for a period of 10 min and then to be the number of contractions and stretches for a period of 20 min. The percentage of inhibition of writhing is calculated by comparing the average of contortions of the group treated with the average of the control group.

2.9 Statistical analysis

Data were expressed as mean $\pm$ S.E.M. (n=6) and statistically assessed using one-way ANOVA (Origin® 5.0). *P* values less than 0.05 were considered significant.

3 Results and discussion

3.1 Assessment phytochemical

The use of medicinal plants for the treatment of human diseases has increased considerably worldwide, including inflammatory processes of diverse origins (Cirigliano and Sun, 1998; Priya et al., 2004; Castelucci et al., 2007). Natural products derived from plants have been characterized and identified as new chemical compounds of therapeutics importance. This crescent interest in plant-derided drugs is mainly due to the belief that "natural medicines" are cheaper, safe and reliable than the synthetic drugs, many of which are toxic and have adverse side-effects (Ojewole, 2007). The results of phytochemical screening of EA presented condensed cyanidins, terpenes and polifenóis as major components. The sample did not present under the conditions used, alkaloids, steroids, iridoids and saponins. Several plants belonging to the family Euphorbiaceae, have been investigated for their phytochemical constituents. *Trigonostemos chinensis* appears in its stem bark, terpenes and alkaloids (Zhu, 2010). Alkaloids

and phenolic derivatives are the main constituents of *Croton xalapensis* (Arevalo, 2009). In 2009, Abd-Alla isolated a flavonoid (biflavonoid di-C-glucoside) of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), a plant that has its oil very popularly used as antifungal.

3.2 Acute Toxicity

The alcoholic extract of *S. jacobinenses* (EA) showed no toxicity at the dose tested (2000 mg/kg of feed) the animals were alive even after 14 days of observation, releasing the study for any concentration of the samples, provided that it is below 2000 mg/kg.

3.3 Anti-inflammatory test

We tested the alcoholic extract (EA) of the bark of *S. jacobinenses* and a flavonoid isolated from the same plant at doses of 25mg/kg, 50mg/kg and 100mg/kg. The results were compared with anti-inflammatory drugs widely known as the 74.5% inhibition of inflammation of dexamethasone, 55.3% of piroxicam and 76% of indomethacin, used as positive controls. The results of anti-inflammatory activity in vivo by testing the carrageenan-induced inflammation are shown in **Table 1** and **Figure 1 A and B**. The extract inhibited in 57.78%, 43.71% and 54.14% to inflammation in the concentrations of 25, 50 and 100 mg/kg, respectively, compared with the negative control. The same controls were used for the tests with the flavonoid showed that inhibition of 57.28%, 50.11% and 61.10% at concentrations of 25, 50 and 100 mg/kg, respectively. The model of carrageenan-induced peritonitis is presented as one of the most used and studied (Leme, 1973). Carrageenan edema produces a maximum 3 h associated with the activation of the cyclooxygenase and sensitive to glucocorticoids and antagonists of prostaglandin synthesis (Dirosa, 1971).

Flavonoids have been shown to possess anti-inflammatory action in vivo. Some articles suggest are good anti-inflammatory agents, with no significant side effects ulcer present other anti-inflammatory drugs commonly used (Di Carlo, 1999). Different flavonoids have been identified as anti-inflammatory due to its ability to inhibit the metabolism of arachidonic acid (Middleton, 2000; Chi, 2001; Havsteen, 2002). In 1984, Landolfi reported that some flavonoids such as myricetin and quercetin block both routes of cyclooxygenase and lipoxygenase in relatively high concentrations, whereas at lower concentrations of the lipoxygenase route was the main target of the inhibitory activity. Studies done with EA and flavonoid showed that the higher doses do not show a significant increase in anti-inflammatory action. Lower doses showed similar inhibition to the inhibition shown by the higher dose. The potential anti-inflammatory made by EA and the flavonoid was very similar to piroxicam presenting inhibition of 55.3%, reaching in some concentrations, to surpass it. The results of this study

indicated no significant difference in inhibition of cell migration during the induction of carrageenan inflammation between the rates of EA and the flavonoid tested. This may be due to the hypothesis that the anti-inflammatory action in this EA is due solely to flavonoids and that this effect is not inhibited by any substance present in it. This result becomes relevant because we demonstrated that it is not necessary for the flavonoid pure enhancement of their pharmacological action.

3.4 Antinociceptive activity

The model used in this study nociception, the abdominal writhing test induced by acetic acid, is described as a typical model for assessing pain of inflammatory origin, little specific, but with good sensitivity (Young, 2005). In this model, administration of an irritant to serous membrane, such as acetic acid, causes stereotyped behaviors in mice and rats, which are characterized by writhing, reduction and lack of coordination of motor activity. These behaviors are considered to show reflexes and visceral pain. The local irritation caused by the administration of this agent in the intraperitoneal cavity triggers the release of several mediators such as cytokines and eicosanoids (Koster, 1959; Matheus, 2005). These mediators activate nociceptors quimiosensíveis that contribute to the development of pain.

It was found that all tested doses of EA and the flavonoid of plant caused significant inhibition of writhing responses induced by acetic acid when compared with control values ranged from 53 to 71% inhibition, and the EA at a dose of 100mg / kg po, the most effective (**Table 2** and **Figure 2 A and B**). The drug used as positive control was the Dipyrone (150mg/Kg), which presents an inhibition of pain around 72.6%. Dipyrone (METAMIZOL) is widely used as anti-inflammatory drugs (AINEs).

It is known that the constriction induced by acetic acid is considered a model non-selective antinociceptive, since the acetic acid acts indirectly by inducing the release of endogenous mediators, which stimulate the nociceptive neurons that are sensitive to non-steroids, narcotics and other centrally active drugs (Collier, 1968; Bighetti, 1999). Thus, the test results alone are not conclusive as to whether the antinociceptive effects are central or peripheral (Sanchez-Mateo, 2006). Nevertheless, the results are very encouraging, since, in all concentrations the anti-nociceptive effect is closer to those of inhibition of pain Dipyrone (150 mg / kg) and very low concentration. These results are important to value the use of natural compounds in modern medicine. The secondary metabolites derived from plants have contributed greatly to our understanding of important mechanisms related to the process of transmission and treatment of pain, such as the characterization of receptors and endogenous ligands in the nociceptive (Calixto, 2000).

Many plants commonly used in folk medicine have shown experimentally proven analgesic properties, such as extract of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg. (Zhou, 2008), extracts of the seeds of *Peganum harmala* L. (Farouk, 2008), the ethanol extract of the leaves of *Taxus wallichiana* Zucc. (Niss, 2008) and the aqueous extract of the roots of *Glycine tomentella* (Lu, 2007). The results of this study suggest that the effects of the samples of *S. jacobinenses* may be related to inhibition of the release of proinflammatory mediators, induced by acetic acid, but we cannot confirm if its effects are central or peripheral. Furthermore, the results indicate that EA and flavonoid containing analgesic, and anti-inflammatory activity, suggesting that prostaglandin synthesis may be commonly involved in both activities of EA and flavonoid or the mode of action of both preparations is related with the awareness of nociceptive receptors of prostaglandins. From these results, it can be concluded that the phloem of *S. jacobinenses* have a beneficial effect when used in the treatment of inflammation and pain. However, it is worthwhile to test its anti-inflammatory and analgesic in other models and to elucidate their mechanisms of action. Other experiments in this direction are underway

Acknowledgements

This work was financially supported by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

References

- ABD-ALLA HI, MOHARRAM FA, GAARA AH, EL-SAFTY MM. Phytoconstituents of *Jatropha curcas* L. leaves and their immunomodulatory activity on humoral and cell-mediated immune response in chicks. *Z Naturforsch C*. v. 64(7-8), p.495-501, 2009.
- AREVALO C, LOTTI C, PICCINELLI AL, RUSSO M, RUIZ I, RASTRELLI L. Magnoflorine and phenolic derivatives from the leaves of *Croton xalapensis* L. (Euphorbiaceae). , v. 4(12), p. 1697-700, 2009.
- BIGHETTI, E.J.B., HIRUMA-LIMA, C.A., GRACIOSO, J.S., SOUZA BRITO, A.R.M., Anti-inflammatory and antinociceptive effects in rodents of the essential oil of *Croton cajucara* Benth. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* v.51,p. 1447–1453, 1999.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v.33, p.179-189, 2000.
- CALIXTO, J. B.; SCHEIDT, C.; OTUKI, M. F.; SANTOS, A. R. S. Biological activity of plant extracts: Novel analgesic drugs. *Expert Opinion Emerging Drugs*., v.6, n.2, p.261-279, 2001.

- CHI, Y.S., JONG, H.G., SON, K.H., CHANG, H.W., KANG, S.S., KIM, H.P.,
Effects of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases. *Biochemical Pharmacology* v.62, p.1185–1191, 2001.
- COLLIER, H.O.J., DINNEEN, L.C., JOHNSON, C.A., SCHNEIDER, C.. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. *British Journal of Pharmacology* v.32,p. 295–310, 1968.
- DI CARLO, G., MASCOLO, N. LZZO, A.A., CAPASSO,F., Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, *Life Sciences*, v.65. n 4. p. 337-353. 1999.
- DiROSA, M., GIROUD, J.P., WILLOUGHBY, D.A., Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.* v.104, p. 15-29, 1971.
- EMIM, J. A.; OLIVEIRA A. B.; LAPA A. J. Pharmacological evaluation of the anti-inflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and coumestrol, in rats and mice. *J. Pharmacol.*, v.46, p.118-122, 1994.
- GUPTA,S.; MURCH,K.W.; MOORE, K.L.; PURDY, T. P.; STAMPER-KURN, D. M. Bose-Einstein Condensation in a Circular Waveguide. *Phys. Rev. Lett.* v;95,p. 143-201, 2005.
- HARBORNE, J.B. *Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis*. 2^a ed. London: Chapman/Hall, 1991.
- HAVSTEEN, B.H., The bioactivity and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics* v. 96,p. 67–202, 2002.
- R. LANDOLFI, R.L. MOWER and M. STEINER, *Biochem. Pharmacol.*, v.32, p. 1525-1530, 1984.
- LEME, J.G., HAMAMURA, L., LEITE, M.P., SILVA, M.R., Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rats paw by local injection of carrageenan and by heating. *Br. J. Pharmacol.* v.48, p.88-96, 1973.
- KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DE BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings*, v. 18, p. 412–418, 1959.
- MARKHAN, K. R. *Techniques of flavonoid identification*. London: Academic Press, 1982.
- MATHEUS, M.E.; BERRONDO, L.F.; VIEITAS, E.C.; MENEZES, F.S.; FERNANDES, P.D. Evaluation of the antinociceptive properties from *Brillantaisia palisotii* Lindau stems extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 102, p. 377–381, 2005

MIDDLETON, E., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C.. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews* v.52, p.673–751, 2000.

NEU, R.A., A new reagent for differentiating and determining flavones on paper cheomatograms. *Naturwissenschaften* v.43, p.82. 1956.

ROBERTSON, E. H.; CARTWRIGHT, R. A.; WOOD, D. J. The flavones of tea. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v. 7, p. 637-646, 2002.

SÁNCHEZ-MATEO, C.C. ; BONKANKA, C.X.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, P.; RABANAL, R.M. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil. *Journal of Ethnopharmacology* v.107, p. 1–6, 2006.

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

STIASNY, E., The qualitative detection and differentiation of vegetable tannins, *Collegium, Haltinge*, 1912.

VAZ, A. F. M.; Costa, R.M.P.B.; Melo, A.M.M.A.; Oliva, M.L.V.; Santana, L.A.; Silva-Lucca, R.A.; Coelho, L.C.B.B.; Correia, M.T.S.; Biocontrol of *Fusarium* species by a novel lectin with low ecotoxicity isolated from *Sebastiania jacobinensis*. *Food Chemistry*. v. 119, p. 1507–1513, 2010.

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

WAGNER, H., BLADT, S., .Plant drug analysis (2nd edn.). Springer, New York. 1996.

YOUNG, J.G.; ESKENAZI B, GLADSTONE E.A., BRADMAN A, PEDERSEN L, JOHNSON C, BARR D.B., FURLONG C.E., HOLLAND N.T. Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates.199-209,2005.

XAVIER, H.S.; BARRETO, S.L.B.; RANDAU, K.P.; ARAÚJO, E. L. Contribuição à caracterização de taninos hidrolisáveis. *Anais do 53º Congresso Nacional de botânica* , Resumo 042, p.20, Recife, 2002.

ZHU, Q; TANG, C.P.; KE CQ, LI, X.Q; LIU J, GAN, L.S; WEISS, H.C.; GESING. E, R; YANG, Y. Constituents of *Trigonostemon chinensis*. *J. Nat. Prod.*, v. 73 (1), pp 40–44, 2010.

Table 1 – Evaluation of antiinflammatory activity of standard drugs (dexamethasone, piroxicam and indomethacin), EA and Flavonoid on carrageenan-induced peritonitis in pre-treated mice.

Compound	PMNL/mL	Antiinflammatory
	exsudate ± S.E.M. (x 10 ⁶)	Activity (%)
Control	12,08± 2,6	---
Dexamethasone	3,1±0,3*	74,5%
(2 mg/kg)		
Piroxicam	5,2 ±0,5*	55,3%
(3 mg/kg)		
Indomethacin	2,7±0,4*	76%
(10 mg/kg)		
EA (25 mg/kg)	5,1±0,30*	57,78%
EA (50 mg/kg)	6,8±0,1*	43,71%
EA(100 mg/kg)	5,54±0,4*	54,14%
Flavonoid (25mg/kg)	5,16± 0,1*	57,28%
Flavonoid	6,03± 2,2*	50,11%
(50 mg/kg)		
Flavonoid	4,70±1,51*	61,10%
(100 mg/kg)		

n=6. * $P < 0.05$ vs. control group.

Table 2 – Anti-nociceptive effect of standard drug (dipyrone), EA and flavonoids by acetic acid-induced writhing response test in mice.

Compound	Medium $\pm$ S.E.M.	Protection (%)
Control	70,4 $\pm$ 3,21	
Dipyrone (150 mg/kg)	18,2 $\pm$ 1,95*	72,60%
EA (25 mg/kg)	22,2 $\pm$ 1,57*	68,47%
EA (50 mg/kg)	24,2 $\pm$ 1,48*	65,63%
EA (100mg/kg)	20,2 $\pm$ 2,19*	71,31%
Flavonoid (25 mg/kg)	29,3 $\pm$ 2,13*	58,33%
Flavonoid (50 mg/kg)	32,6 $\pm$ 2,46*	53,69%
Flavonoid (100mg/kg)	31,2 $\pm$ 1,25*	55,73%

n=6. * $P < 0.05$ vs. control group.

Figure caption

Figure 1- Effect of pretreatment EA [A] and flavonoid [B] on the migration of polymorphonuclear leukocytes (number of PMNL/ml exudate) with carrageenan-induced peritonitis in mice. Each column represents the mean of six animals and vertical lines show SEM Asterisk denotes the level of significance in relation to the value of the control: * $P < 0.05$. Dexamethasone, piroxicam and indomethacin were used as standard drug.

Figure 2 - Effects of Dipyrone (standard drug), EA [A] and flavonoid [B] in the control group in writhing induced in rats by intraperitoneal injection of acetic acid. Each column represents the mean of six animals and vertical lines show SEM Asterisk represents the level of significance in relation to the intervals of the control: * $P < 0.05$.

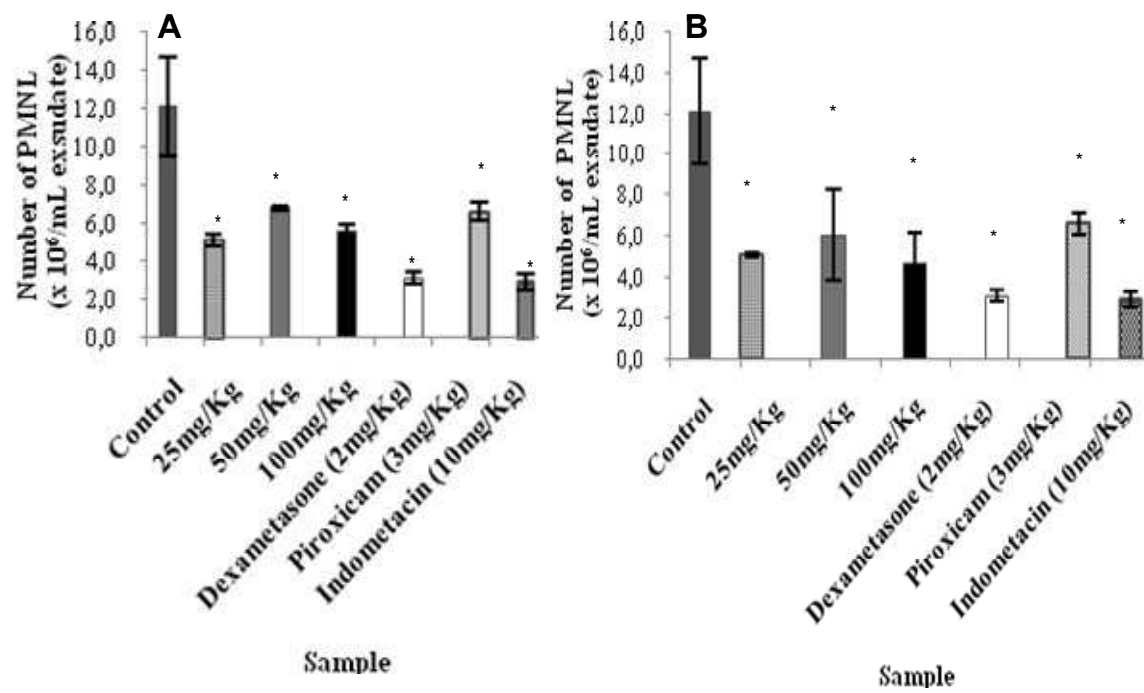


Figure 1

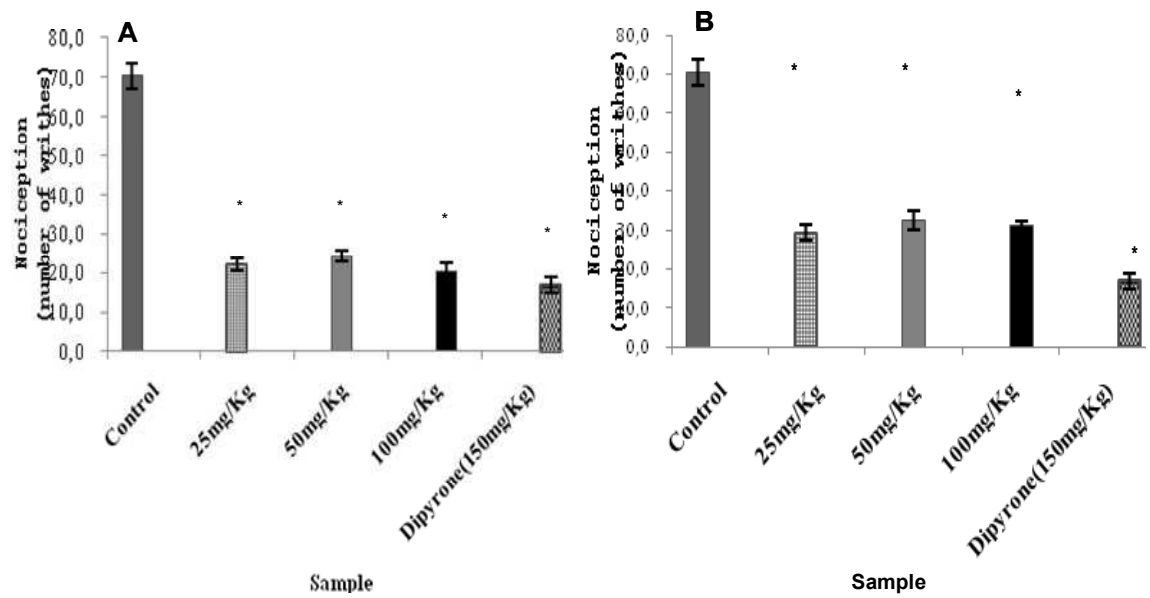


Figure 2

5. CONCLUSÕES

Os protocolos experimentais utilizados neste trabalho permitem concluir que:

1. A abordagem fitoquímica de EA apresentou cianidinas condensadas, terpenos e polifenóis como principais constituintes;
2. EA não possui toxicidade oral;
3. EA e o flavonóide isolado reduzem a migração leucocitária no exsudato inflamatório, indicando atividade antiinflamatória significativa;
4. EA e o flavonóide isolado apresentam atividade analgésica significativa.

