



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO AMBIENTE
PPGSHMA

IGOR CAVALCANTI FERRAZ

**ESTUDO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DO
ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DE *Eugenia
brejoensis* MAZINE**

Vitória de Santo Antão

2016

IGOR CAVALCANTI FERRAZ

**ESTUDO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DO
ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DE *Eugenia
brejoensis* MAZINE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Área de Concentração: Saúde humana

Orientador: Prof. Dr. René Duarte Martins

Vitória de Santo Antão

2016

Catálogo na Fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE. Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Ana Lígia Feliciano dos Santos, CRB4: 2005

F368e Ferraz, Igor Cavalcanti.
Estudo de atividades farmacológicas do óleo essencial extraído de *eugenia brejoensis mazine* / Igor Cavalcanti Ferraz. - Vitória de Santo Antão, 2016.
xii, 50 folhas: il.; tab., graf.

Orientador: René Duarte Martins.
Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Saúde Humana e Meio Ambiente, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Botânica. 2. Farmacologia. 3. *Eugenia brejoensis mazine*. I. Martins, René Duarte (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-102/2016



Dissertação de Mestrado apresentada por **Igor Cavalcanti Ferraz** ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco, sob o título “**ESTUDO DE ATIVIDADES FARMACOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL EXTRAÍDO DE *Eugenia brejoensis* MAZINE**”, orientada pelo Prof. Dr. René Duarte Martins, aprovada no dia 31 de março de 2016 pela Banca Examinadora composta pelos seguintes professores:

Dr. Emerson Peter da Silva Falcão
Núcleo de Nutrição – CAV/UFPE

Dr.^a Vitorina Nerivânia Covello Rehn
Núcleo de Enfermagem – CAV/UFPE

Dr.^a Roberta Jeane Bezerra Jorge
Departamento de Ciências da Vida – CAA/UFPE

Autor:

Igor Cavalcanti Ferraz

“É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se em ver a vida passar;

É melhor tentar ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.

Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver...”

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família pelo apoio incondicional em todos os instantes de minha vida, tanto nos momentos bons como nos ruins. Hoje sou resultado da confiança e da força de cada um de vocês. Aos meus pais, Maria José e Izidio, pelo suporte e incentivo, e por tudo o que me ensinaram e continuam me ensinando até hoje. Grande parte do que sou é reflexo de vocês. As minhas irmãs, Iara e Lana, pelo companheirismo, amizade, carinho. A minha Namorada Nathalia, pelo companheirismo, amor, cumplicidade e ajuda, o que a torna um dos meus pilares. Ao meu sobrinho João Lucas, por representar uma das maiores fontes de alegria da minha vida.

Ao Prof Dr René Duarte Martins, pela confiança, atenção, orientações, ensinamentos e, por mais uma vez, abrir as portas do laboratório para a realização e concretização deste trabalho, e por contribuir para o meu crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof Dr Rafael matos Ximenes. Seus ensinamentos foram primordiais para a obtenção do conhecimento no laboratório e experiência. Sou sinceramente grato pela amizade, paciência e ajuda em todos os momentos.

A todos do Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do CAV e do Laboratório de Etnofarmacologia Aplicada, pelo auxílio nos experimentos, especialmente a Lenise, Wellinton e Simone, pelo companheirismo e amizade.

Agradecimento especial a Isabela, Renato e Jaiurte, Raudinei, Wanessa, Fatinha e Dilliane, pela amizade e companheirismo dentro e fora do laboratório. Obrigado pela descontração, pelas ajudas, risadas, e, principalmente, por tornar meus momentos no laboratório mais leves e felizes. Desejo muito sucesso a todos vocês, porque são merecedores. Esse trabalho também é de vocês.

A todos do LAFIFA e do LEA, por esses dois anos de convivência. Aos funcionários do departamento do CAV e do DANTI, pelo seu conhecimento, ajuda e pelos momentos de descontração.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

E a nosso grande Arquiteto do universo, por sempre me iluminar e dar forças para seguir em frente, pois só Ele sabe como tem sido difícil esse caminho até aqui.

Muito Obrigado a todos!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO 1	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivos	4
1.2.1 Objetivo Geral	4
1.2.2. Objetivos Específicos	4
1.3 Revisão da Literatura	5
CAPÍTULO 2	16
Estudo da atividade antinocioceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial extraído das folhas da Eugenia brejoensis MAZINE	
2.1. Resumo	17
2.2 Introdução	18
2.3 Material e Métodos	19
2.4 Resultados	24
2.5 Discussão geral	27
2.6 Conclusões	37
2.7 Referências Bibliográficas	38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e indometacina 10mg/Kg no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,6% em camundongos 26
- Figura 2.** Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*, v.o. e Morfina 7,5mg/Kg, v.o no modelo de formalina intraplantar para avaliação de dor 27
- Figura 3.** Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*, no modelo de capsaicina intraplantar para avaliação de dor. 28
- Figura 4.** Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e diazepam no número de cruzamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto 29
- Figura 5.** Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e diazepam no número de comportamento de auto-limpeza no teste do campo aberto 30
- Figura 6.** Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e do diazepam no número de levantamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto 31
- Figura 7.** Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e indometacina 10mg/Kg v.o no modelo de edema de orelha por óleo de cróton com tratamento sistêmico em camundongos. 32
- Figura 8.** Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e indometacina 10mg/Kg V.T no modelo de edema de orelha por óleo de cróton com tratamento tópico em camundongos. 33

LISTA DE SÍMBOLOS

Mg/kg	Miligramma por kilograma
Cm	Centímetros
%	Porcentagem
μL	Microlitros
$\mu\text{/mol}$	Micromolar
P	Significância
M	Mu
δ	Delta
κ	Kappa

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS	Organização Mundial de Saúde
OEEB	Óleo essencial de <i>Eugenia brejoensis</i>
IPA	Instituto de Agrônomo de Pernambuco
CEUA-UFPE	Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco
LIKA	Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
UFPE-CAV	Universidade Federal de Pernambuco – Centro acadêmico de Vitória
LEA	Laboratório de etnofarmacologia aplicada
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
V.O	Via oral
COX	Enzima Ciclo-oxigenase
LOX	Lipo-Oxigenase
V.T	Via tópica
SUS	Sistema Único de Saúde

RESUMO

A Família Myrtaceae representa uma das famílias botânicas de maior expressão nos ecossistemas brasileiros do ponto de vista farmacológico. Estudos realizados com extratos brutos de espécies pertencentes a esse gênero demonstraram a presença de propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antifúngicas, hipotensora, antidiabética e antioxidante, com base em atividades terapêuticas relatadas na literatura. O objetivo geral deste estudo foi avaliar a atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial das folhas de *Eugenia brejoensis* (OEEB). Foram realizados testes de toxicidade aguda, avaliação da atividade antinociceptiva, avaliação da *performance* motora e a avaliação anti-inflamatória no tratamento oral e sistêmico. Os experimentos *in vivo* foram realizados com camundongos *Swiss*, com idades entre 45 e 60 dias e doses de 30mg, 100mg e 300mg/kg, conforme metodologia adotada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco. Conforme observado, o OEEB não apresentou toxicidade oral em dose teste de 3000 mg/kg. A atividade antinociceptiva foi observada em todas as doses testadas no modelo de contorção abdominal com diminuição significativa da quantidade de contorções abdominais observadas. No modelo de formalina, o OEEB apresentou atividade antinociceptiva na fase neurogênica, nas doses de 100 e 300mg e apresentou atividade na fase inflamatória na dose de 300mg, enquanto que no teste da capsaicina intraplantar observou-se atividade antinociceptiva em todas as três doses estudadas. A atividade anti-inflamatória, no modelo de inflamação por óleo de cróton com tratamento sistêmico, ocorreu apenas com a dose de 300mg, enquanto que o tratamento tópico apresentou atividade nas doses de 100 e 300mg. Não foi observado distúrbio de marcha nos animais estudados, fato que reforça a ação antinociceptiva nos modelos estudados.

Palavras-chave: Anti-inflamatório. Antinocicepção. Cutia. Myrtaceae.

ABSTRACT

The family Myrtaceae represents one of the botanical families highest expression in Brazilian ecosystems from the pharmacological point of view, studies of crude extracts of species belonging to this genus have demonstrated the presence of anti-inflammatory, analgesic, antifungal, antihypertensive, antidiabetic and antioxidant, based therapeutic activities reported in the literature, the aim of this study was to evaluate the antinociceptive activity and anti-inflammatory essential oil from the leaves of *Eugenia brejoensis* (EOEB). It was performed in acute toxicity tests, evaluation of antinociceptive activity, evaluation of motor performance and anti-inflammatory oral and systemic treatment evaluation. The in vivo experiments were carried out with Swiss mice aged between 45 and 60 days and doses of 30mg, 100mg and 300mg / kg according to the methodology adopted and approved by the Ethics Committee on Animal Research of the Federal University of Pernambuco. As noted, the EOEB showed no oral toxicity test dose of 3000 mg / kg antinociceptive activity was observed at all doses tested in the Writhing model with a significant decrease in the amount of writhes observed. In the formalin model, EOEB presented antinociceptive activity in neurogenic phase at doses of 100 and 300 mg and was active in the inflammatory phase in the 300 mg dose, while the test of capsaicin intraplantar observed antinociceptive activity in all the three dose levels. Anti-inflammatory activity in the model of inflammation by croton oil with systemic therapy only occurred at a dose of 300 mg, while the topical treatment showed activity at doses of 100 and 300 mg. No gait disturbance was observed in the animals studied, a fact that reinforces the antinociceptive action in the studied models.

Key words: Anti-inflammatory. Antinociception. *Cutia*. Myrtaceas.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

A análise da utilização da biodiversidade pelo homem pode ser verificada através de diversos prismas, sejam estes ecológicos, evolutivos ou pelas características potencialmente benéficas para sua utilização no dia a dia (LÉVÊQUE, 1999; FIRMO et al, 2011).

Do ponto de vista de possível utilidade para a saúde, um dos componentes mais utilizados pelos homens são as plantas e seus derivados, as quais, desde o início da civilização tornam-se imprescindíveis, tanto para fins alimentares quanto pelas suas virtudes terapêuticas (LEÃO; FERREIRA; JARDIM, 2007).

A utilização de plantas medicinais foi, durante muitos séculos, o principal insumo de diversas culturas, sendo sua utilização aplicada em um amplo leque de enfermidades e agravos de saúde, formando uma das principais e mais antigas linhas de defesa do homem e a única terapêutica até o século XIX (MORAES; SANTANA, 2001; ANDRADE; CARDOSO; BASTOS, 2007;)

Outra característica marcante das plantas medicinais é a quantidade de conhecimento gerado e acumulado durante milênios de utilização, por diversas civilizações, tais como Egípcia, Grega e Romana e, mais recentemente, a Chinesa, onde tal conhecimento aprofundou-se e se diversificou, sem nunca cair totalmente no esquecimento, mesmo com o avanço das drogas sintéticas (DUARTE, 2006; FIRMO *et al* 2011).

Segundo dados da OMS, 80% da população mundial ainda faz utilização e confia nos efeitos de plantas medicinais, principalmente em países em desenvolvimento e com característica agrária, nos quais é possível observar que aproximadamente 25% dos receituários dispensados, são fórmulas baseadas em substâncias derivadas de plantas ou análogos sintéticos originados destas (GURIB-FAKIM, 2006).

O conhecimento popular gerado por milênios de utilização das plantas medicinais é muito vasto. Uma grande variedade de medicamentos utilizados atualmente foi descoberta a partir do conhecimento popular. Tomemos, por exemplo, os salicilatos e digitálicos, esse conhecimento se mantém como parte da cultura popular, mesmo com o avanço dos fármacos. Tal conhecimento, contudo, é conhecido vulgarmente como “sabedoria popular”, propagando-se de pai para filho, desconsiderando-se, inclusive, o conhecimento científico, o que demonstra pouca informação sobre suas propriedades farmacológicas e toxicológicas (AMOROZO, 2002; OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007).

O Brasil possui uma flora rica em espécies que apresentam características úteis ao homem, tanto do ponto de vista econômico quanto medicinal, com destaque para a família *Myrtaceae*, que representa 140 gêneros e 3.500 espécies de árvores e arbustos. Apresentam-se amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais como Austrália, Ásia e América (CRAVEIRO *et al*, 1981; RAMOS *et al*, 2006)

Do ponto de vista farmacológico, o gênero *Eugenia*, apresenta um vasto potencial, citando a atividade anti-inflamatória, antibacteriana (ADEBAJO, OLOKE E ALADESANMI, 1989; KUSKOSKI *et al*, 2006; OUSSALAH *et al*, 2007; BENFATTI *et al*, 2010), citotóxica, antioxidante (ROESLER, LORENCINI & PASTORE, 2010), antitumoral, tripanocida, antiviral, hipoglicemiante (BRUN & MOSSI, 2010) e estimulante da liberação de insulina, (JUNGES, 1997; CONSOLINI & SARUBBIO, 2002; BRAGA *et al*, 2007; MAGINA *et al*, 2010) e, mais recentemente, a atividade larvicida (SILVA *et al*, 2015).

Mais recentemente, em 2008, outra espécie de *Eugenia* foi descoberta e descrita no nordeste brasileiro, ela foi denominada de *Eugenia brejoensis*, devido ao seu local de descoberta, florestas úmidas do estado de Pernambuco, popularmente conhecida como “brejos”, onde sua população descreveu sua utilização principal em forma de chá contra diarreia (MAZINE, 2008).

Levando em consideração a importância da investigação de espécies do semiárido nordestino, foi feito um levantamento etnobotânico para investigação de espécies com características potencialmente benéficas. Entre essas espécies, surgiu a *Eugenia brejoensis*, levando em consideração os dados farmacológicos de

espécies congêneres de *Eugenia*, estas apresentam um amplo leque de atividade úteis ao homem. Propõe-se, portanto, neste projeto a avaliação da ação antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de folhas da *Eugenia brejoensis* (OEEB) e os possíveis mecanismos envolvidos nas ações farmacológicas detectadas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar a composição química e realizar *screening* farmacológico das atividades antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial extraído de *Eugenia brejoensis* MAZINE.

1.2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Analisar a composição química do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*;
- ✓ Avaliar a toxicidade Aguda do óleo essencial;
- ✓ Estudar a atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*;
- ✓ Investigar a atividade anti-inflamatória tópica e sistêmica do óleo essencial;
- ✓ Investigar a influência do óleo sobre o sistema nervoso.

1.3 REVISÃO DA LITERATURA

1.3.1 Plantas medicinais

A utilização de plantas para fins medicinais remete ao Início da civilização humana. Passando por objeto de cura, utilizadas por curandeiros, xamãs, magos e feiticeiros de outrora, há inúmeros relatos destas utilizações por diversas civilizações como o papiro de Ebers, espécie de farmacopeia faraônica escrita em torno de 1550 a.C., já se referia aos medicamentos de origem vegetal e mencionava cerca de 700 remédios (GURGEL *et al*, 2005).

Os conhecimentos do uso terapêutico das plantas foram acumulados e disseminados durante muitos séculos, representando a principal forma de tratamento em diversas civilizações e povos durante a história, e ainda representa o único recurso terapêutico em muitas comunidades e grupos étnicos. Mesmo com o avanço dos fármacos sintéticos, grande parte da população de baixa renda não tem acesso a drogas sintéticas e ainda tem como principal meio de tratamento plantas e seus extratos (DI STASI, 1996).

O Brasil mostra-se nesse cenário mundial como detentor de uma das maiores biodiversidades do mundo, mostrando-se rico e com diversidade de biomas como o cerrado, o pantanal e a região amazônica e a caatinga. Esta enorme biodiversidade vegetal é capaz de gerar fitoterápicos, fitofármacos e protótipos de novas drogas com importância econômica (CALIXTO, 2000; NEWMAN & CRAGG, 2007).

Na última parte do século XX, a prática da fitoterapia ganhou força em todo mundo e passou a ser mais difundida. Muito desse reconhecimento se deve a valorização da fitoterapia e identificação de novas plantas medicinais, demonstrando seu poder de cura e boa capacidade de produzir novos agentes farmacológicos (ELVIN-LEWIS, 2001; CARNEIRO *et al*, 2014).

Em vista destes avanços da fitoterapia, as plantas medicinais tornaram-se um alvo da indústria farmacêutica e de diversas instituições na busca por novos

compostos ativos e drogas que possam ajudar na saúde da população mundial (CARNEIRO *et al*, 2014; NOBRE *et al*, 2015).

Vários estudos demonstram um enorme leque de potencial farmacêutico para produtos oriundos de plantas, tanto que em 1010, as descobertas nos últimos 50 anos, 275 que corresponde a 30% deste total, são produtos de plantas medicinais e 16% deste apresentam características anti-inflamatórias e analgésicas (CALIXTO, 2000).

Segundo a OMS, existem 252 fármacos considerados essenciais e básicos. 11% deles são exclusivamente derivados de plantas e outra parte que representa uma quantidade significativa são drogas sintéticas, provenientes de análogos naturais. São exemplos importantes dessas drogas: a atropina (*Atropa belladonna*), morfina e codeína (*Papaver somniferum*), digoxina (*Digitalis sp*), cafeína (*Coffea arábica*), reserpina (*Rauwolfia serpentina*) vincristina e vimblastina (*Catharanthus roseus*) quinina e quinidina (*Chinchona sp.*) e o taxol (*Taxus brevifolia*) (CALIXTO, 2000).

No Brasil, as formas mais comuns de utilização de plantas medicinais são através de infusões, emplastros ou extratos brutos, onde seu uso normalmente está atrelado a infecções recorrentes e diversas doenças inflamatórias principalmente inflamações da pele, feridas e doenças ulcerativas (LORENZI e MATOS, 2002).

As preparações de plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população brasileira, porém, a grande maioria não possui eficácia comprovada e nem conhecimento sobre seus componentes, o que gera uma necessidade de estudos farmacológicos e conhecimento sobre seus compostos bioativos, para, assim, garantir a eficácia e segurança das plantas utilizadas pelo conhecimento popular (VALE e BERNARDES, 2006)

O conhecimento gerado pela população em torno de plantas e suas propriedades benéficas sempre serviu e servirá como base para pesquisas científicas, uma vez que servem como “direção” para nortear estudos farmacológicos em torno de suas reais atividades, fazendo, assim, uma estrada de mão dupla, onde a população e seu conhecimento servem de base para pesquisas, e os resultados encontrados servem para garantir o uso correto, seguro e reais aplicabilidades das plantas em questão (OLIVEIRA, 2007).

Nesse aspecto, discussões mais amplas e profundas devem ser levantadas sobre as pesquisas de novas plantas medicinais e suas aplicabilidades e inúmeros problemas de saúde da população, gerando, dessa forma, direções e soluções a curto e médio prazo, diminuindo o ônus gerado em torno de medicações, porém, sem nunca comprometer a qualidade e o rigor de estudos técnicos, chegando a uma conclusão detalhada sobre qualidade, legislação específicas e validação de novos fitoterápicos (CARVALHO *et al*, 2008).

. Baseando-se neste fato, o governo elaborou a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos que foi sancionada pelo decreto N° 5.813, de 22 de junho de 2009, cujo objetivo é assegurar o acesso seguro e o uso racional dos fitoterápicos, promovendo o desenvolvimento e inovação tecnológico para o consumo sustentável da biodiversidade brasileira (Brasil, 2009).

Desde 200, o S.U.S (Sistema Único de Saúde) está oferecendo fitoterápicos, como o “guaco” (*Mikania guaco*), como um expectorante; “espinheira santa” (*Maytenus ilicifolia*) para o tratamento de gastrite, úlcera, câncer de pele e outras doenças (RS, 2010; BRASIL, 2010a; BRASIL,2010b; BRASIL,2010c).

Em 2010, outras seis plantas começaram a ser distribuídas: a “aroeira” (*Schinus terebinthifolius*), para tratar infecções ginecológicas; a alcachofra (*Cynara cardunculus*), para o tratamento da dor abdominal associada a problemas do fígado e da bile; a “cáscara sagrada” (*Rhamnus purshiana*), indicada para constipação; a “garra do diabo” (*Harpagophytum procumbens*), com atividade anti-inflamatória para dor nas costas e osteoartrite; a “isoflavona da soja” (*Fabaceae/Leguminosae*), como coadjuvante no tratamento dos sintomas da menopausa e a “unha de gato” (*Uncaria Tomentosa*) com propriedades anti-inflamatórias (oral e tópica), para artrite reumatoide, osteoartrite, câncer e também como fortificante do sistema imunológico (RS, 2010; BRASIL, 2010a; BRASIL,2010b; BRASIL,2010c).

A Agência Nacional e Vigilância Sanitária (ANVISA) é responsável por aprovar e realizar a subsequente comercialização e produção dos medicamentos no Brasil. Em 2010, a ANVISA apresentou uma lista com mais de 60 plantas medicinais com ação terapêutica reconhecida cientificamente (RS, 2010; BRASIL, 2010a; BRASIL,2010b; BRASIL,2010c).

1.3.2 Óleos essenciais (OE)

A definição de óleo essencial foi feita no século XVI por Paracelso, médico e alquimista suíço, para quem o componente efetivo de uma droga era a “quinta essência”. Podem ser extraídos de parte de plantas como frutas, flores, cascas, ou de plantas inteiras, como especiarias e ervas medicinais. São caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, sendo alguns altamente voláteis, capazes de gerar sabores e/ou aromas. Parte das propriedades farmacêuticas descritas para plantas medicinais são creditadas aos óleos essenciais (OE) (EDRIS, 2007).

Fisicamente, se apresentam no estado líquido à temperatura ambiente, com aspecto incolor ou claro. Não se misturam à água, e podem ser extraídos de diferentes modos, como hidrodestilação, destilação a vapor, CO₂ supercrítico, ou com a utilização de solventes orgânicos ou gorduras. O óleo obtido de uma planta serve como característica para aquela espécie. Mesmo que óleos diferentes apresentem compostos iguais qualitativamente, diferenças quantitativas farão com que aquele óleo tenha propriedades químicas e biológicas diferentes demais (TROMBETTA et. al, 2005, EDRIS, 2007).

Os óleos essenciais são utilizados há séculos como flavorizantes, na fabricação de cosméticos e perfumarias, e farmacologicamente com fins medicinais, o que tem estimulado a procura por substâncias biologicamente ativas e eficazes, especialmente sobre microrganismos. Outro aspecto é que pelo fato de serem naturais e biodegradáveis geralmente apresentar baixa toxicidade aos mamíferos e por poderem atuar sobre várias moléculas-alvo ao mesmo tempo, quando comparado a fármacos sintéticos, tornam-se substâncias chaves para a pesquisa de novos medicamentos (FIGUEIREDO et al., 2008).

Os aspectos de caracterização química dos OE podem ser obtidos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, sendo que alguns óleos apresentam mais de 60 compostos diferentes. Os componentes majoritários às vezes representam mais de 85% do total, enquanto outros compostos aparecem em quantidades ínfimas, embora a proporção não esteja relacionada com a grandeza de sua atividade, podendo esta inclusive ser fundamental para a ação farmacológica dos demais (GALINDO et al., 2010).

A atividade dos OE engloba ação fitoterápica, antiviral, antisséptica, nutricional, antifúngica, entre outras. A atividade bacteriostática e /ou bactericida de OE é exercida principalmente por compostos terpenoides (BURT, 2004). Porém, a composição e a atividade de um óleo essencial pode ser modificada por vários aspectos, desde o modo de extração, a fatores próprios da planta e do ambiente em que ela está inserido, fatores estes que estão detalhados adiante (SILVA et al., 2011).

1.3.3 Dor

A dor é uma experiência sensorial e psicológica vivenciada por quase todos os seres humanos, apresenta-se como um dos principais sinais de alerta para possíveis ameaças ao organismo. É por meio dela que a maioria das patologias se manifestam e acabam se tornando um dos principais sintomas (KLAUMANN *et al*, 2008).

A dor representa um importante mecanismo de alerta para o sistema nervoso central sobre danos celulares e teciduais. Referindo a "*International association from study of pain*", a dor é uma experiência sensorial e emocional desagradável, secundária a um dano a tecidos ou células que já está em curso ou potencial. A dor fisiológica é completamente distinta de dores relacionadas a lesões teciduais e nervosa, uma vez que essas geram alterações no sistema nervoso, culminando em dor patológica ou clínica (ARAÚJO *et al*, 2011).

O fenômeno da dor engloba uma experiência sensorial conhecida como nocicepção a qual está relacionada a uma agressão real ou potencial de um determinado tecido, e um componente experiências emocionais dando assim uma conotação e percepção individual à dor. Assim sendo, estímulos semelhantes podem levar a sensações dolorosas distintas (ALMEIDA *et al*, 1999).

Em condições fisiológicas normais, os estímulos sensoriais são captados por estruturas do Sistema Nervoso Periférico (SNP) conhecidos como nociceptores e transmitido para as estruturas do Sistema Nervoso Central (SNC), onde tal informação será decodificada e interpretada. A partir daí mecanismos modulatórios

de controle sensibilizam ou suprimem a nocicepção em todas as estações em que ela é processada.

A dor de conotação aguda apresenta-se como fundamental para a preservação da integridade do indivíduo, pois se manifesta como sinal risco real para lesões no organismo; já a dor crônica não tem este valor biológico pois aparece como sintoma tardio de uma lesão já instalada mas representa uma importante causa de incapacidade (TEIXEIRA, 1990).

O início da cadeia de eventos que dará origem à percepção sensitivo-doloroso é a captação e transformação dos estímulos ambientais físicos ou químicos intensos por nociceptores periféricos e subsequente transformação desses estímulos em potenciais de ação, que das fibras nervosas periféricas são transferidos para o SNC. Os nociceptivos são representados por terminações nervosas livres presentes em fibras amielínicas do tipo C e fibras mielínicas finas A-delta, sendo classificados como termomecânicos, químicos e polimodais. (GUYTON, 2006; PAIVA, 2006).

A transmissão do estímulo doloroso é dividido em duas vias, uma rápida chamada de via neoespinotalâmica e outra de transmissãoo lenta, chamada de paleoespinotalâmica. A neoespinotalâmica é responsável pela transmissão da dor rápida, sendo formada por fibras do tipo A delta. Essa via é caracterizada por possuir um baixo número de sinapses e por chegar a pontos específicos do tálamo. A dor desta via é conhecida como uma dor epicrítica, apresentando características bem definidas, bem localizada, intensificada e bem discriminada (GUYTON, 2006; GANONG, 2007).

A segunda via de transmissão do estímulo algésico é conhecida como via paleoespinotalâmica, apresenta uma velocidade transmissão de estímulo mais lenta pois é formada por fibras do tipo C amielínicas, porém apresenta um caráter multissináptico. A dor gerada por essa via é um tipo de dor que dificilmente consegue ser analisada e localizada com precisão, acompanhando sempre uma intensa reação, emocional, motora e comportamental (GUYTON, 2006; GANONG, 2007).

Em contrapartida aos estímulos sensoriais primários e ascendentes da via excitatória, há uma via descendente que exerce uma ação inibitória e de modulação,

consistindo em 3 grandes componentes: (1) As áreas periventricular e da substância cinzenta periaquedutal; (2) O núcleo magno da rafe (3); o complexo inibitório da dor localizado nos cornos dorsais da medula espinhal (DOUGLAS, 2006).

O sistema ativo na inibição da nocicepção é o opióide, agindo através de duas grandes vias, uma central e outra periférica. Na via central, os agonistas opióides, endógenos ou exógenos agem sobre a substância cinzenta periaquedutal, bulbo rostroventromedial e corno dorsal da medula espinhal, ativando a via de controle descendente da dor; em parte, por ativar os canais de potássio e inibir canais de cálcio dependentes de voltagem (MILLAN, 1999).

Outra ação de controle da dor é feita agonistas dos receptores μ , que são os mais significativos na ação analgésica, inibem a ativação da adenilato ciclase em neurônios aferentes primários, enquanto agonistas de receptores δ e κ opióides inibem a secreção de substâncias pró-inflamatórias por neurônios simpáticos (KIM *et al*, 2006).

Pode-se citar ainda outro sistema, o sistema colinérgico, no qual, está bem estabelecido que agonistas colinérgicos e inibidores da acetilcolinesterase, os chamados colinomiméticos, são eficazes em causar antinocicepção em diversos modelos animais, o que sugere potencial terapêutico para essas drogas. Essas substâncias agiriam sobre receptores nicotínicos (canais iônicos) e muscarínicos (acoplados a proteína G), os quais podem exercer ação central por ativar a substância cinzenta periaquedutal, e, assim, ativar a via de controle descendente da dor. Tanto na periferia, quanto no SNC, sabe-se também que agonistas colinérgicos são capazes de estimular a secreção de GABA, e, sendo assim, promover antinocicepção (JONES & DUNLOP, 2007).

Quanto à sua origem, a dor pode ser classificada em: neurogênica, nociceptiva, psicogênica, neuropática e inflamatória. A dor nociceptiva deve-se à estimulação excessiva dos nociceptores localizados na pele, vísceras e outros tecidos. A dor neurogênica reflete dano de tecido neuronal na periferia ou no SNC. Quando há disfunção ou dano de um nervo ou grupo de nervos, resultando em quadro algico, denomina-se dor neuropática. No entanto, quando a dor não é proveniente de fonte somática identificável e pode refletir fatores psicológicos, diz-se dor psicogênica (MILLAN, 1999). Por fim, na dor inflamatória, ocorre significativo

dano tecidual, com dor geralmente mais persistente e acompanhada de inflamação. Nestas circunstâncias, geralmente ocorre quadro de hipersensibilidade causado pela ativação e sensibilização dos nociceptores periféricos por mediadores químicos, produzidos pela lesão tecidual e pela inflamação (JONES & DUNLOP, 2007).

1.3.5 Inflamação

A inflamação corresponde à cadeia de alterações fisiológicas, imunológicas e bioquímicas e tem como gatilho diversos fatores como lesões, infecções ou reações imunológicas (COSTA *et al*, 2012). Sua principal função é a defesa de tecidos com intuito de eliminar a causa da lesão ou minimizar os danos causados pelo mesma (SILVA *et al*, 2014).

Quando ocorre uma agressão que leva ao estímulo inflamatório, o sistema imunológico aciona os mediadores químicos que participam da homeostase do organismo (ROSENBLAT *et al*, 2014). A formação e liberação desses mediadores pró-inflamatórios podem ser de origem tissular, como as aminas vasoativas, o fator de ativação plaquetária (PAF), eicosanoides, citocinas, radicais livres, óxido nítrico, prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, ou de origem plasmática, como os dos sistemas de coagulação, do complemento e das cininas (RUBIN, 2006). Diferentes células estão envolvidas na inflamação, tais como, mastócitos, plaquetas, neutrófilos e monócitos/macrófagos. Elas participam da síntese dos mediadores que estão relacionadas a formação do edema e ao surgimento da dor (ROSENBLAT *et al* 2014; COSTA *et al*, 2012; CLAUDIANO *et al*, 2013). Todavia, a intensidade ou duração do agente inflamatório e o tempo de permanência do mesmo é o que determina a gravidade da lesão caracterizando-a como fase aguda (minutos até dias) ou crônica (semana até anos) (SILVA, *et al*, 2014; WALEAVA *et al*, 2007).

A formação do processo inflamatório é caracteriza por rubor, edema, calor e dor (COSTA *et al*, 2012). Quando liberados, os mediadores pró-inflamatórios ativam receptores específicos de células-alvo, desencadeando respostas diferentes como aumento da permeabilidade vascular que promove o recrutamento e migração

celular de neutrófilos e mastócitos através da quimiotaxia, além de favorecer a contração da musculatura lisa, induzindo a dor ou mediando o dano oxidativo promovido por diferentes substâncias, tais como, citocinas, óxido nítrico dentre outros produtos oriundos do metabolismo do ácido araquidônico (COLEMAN, 2002; SANTANGELO *et al*, 2007; COSTA *et al*, 2012).

O processo inflamatório pode ser observado em diferentes patologias, tais como artrite, artrose, doença de Alzheimer, diabetes, doenças cardiovasculares, aterosclerose, dentre outros. Assim, a resposta inflamatória dada pelo organismo pode ser por meio de defesa a estímulos nocivos, infecções ou até mesmo traumas. Essa reação pode ser responsável pelo surgimento de doenças. Dessa forma, essa defesa pode se dada na forma benéfica, quando há controle na formação e liberação de mediadores químicos responsáveis pela resposta fisiológica, imunológica e bioquímica na presença de uma ação que pode ser física, química ou biológica. Quando essa ação se torna duradoura, essa defesa se dá na forma maléfica ao organismo, uma vez que, dependendo da quantidade de substâncias produzidas, as consequências podem ser reversíveis ou não, visto que o sistema de defesa poderá controlar ou atenuar essa manifestação (COSTA *et al*, 2012).

1.3.6 Inflamação aguda e crônica

A formação do processo inflamatório é caracteriza por rubor, edema, calor e dor (COSTA *et al*, 2012). Quando liberados, os mediadores pró-inflamatórios ativam receptores específicos de células-alvo, desencadeando respostas diferentes como aumento da permeabilidade vascular que promove o recrutamento e migração celular de neutrófilos e mastócitos através da quimiotaxia, além de favorecer a contração da musculatura lisa, induzindo a dor ou mediando o dano oxidativo promovido por diferentes substâncias, tais como, citocinas, óxido nítrico dentre outros produtos oriundos do metabolismo do ácido araquidônico (COLEMAN, 2002; SANTANGELO *et al*, 2007; COSTA *et al*, 2012).

O processo inflamatório pode ser observado em diferentes patologias, tais como artrite, artrose, doença de Alzheimer, diabetes, doenças cardiovasculares, aterosclerose, dentre outros. Assim, a resposta inflamatória dada pelo organismo pode ser por meio de defesa a estímulos nocivos, infecções ou até mesmo traumas. Essa reação pode ser responsável pelo surgimento de doenças. Dessa forma, essa defesa pode se dada na forma benéfica, quando há controle na formação e liberação de mediadores químicos responsáveis pela resposta fisiológica, imunológica e bioquímica na presença de uma ação que pode ser física, química ou biológica. Quando essa ação se torna duradoura, essa defesa se dá na forma maléfica ao organismo, uma vez que, dependendo da quantidade de substâncias produzidas, as consequências podem ser reversíveis ou não, visto que o sistema de defesa poderá controlar ou atenuar essa manifestação (COSTA *et al*, 2012).

1.3.7. Planta utilizada

A família Myrtaceae é uma das famílias botânicas de maior expressão nos ecossistemas brasileiros, tanto em número de indivíduos quando de espécies. Segundo Mendonça *et al* (1998), das 6062 espécies citadas no serrado 214 pertencem à família Myrtaceae, correspondendo a 3,5% do bioma local. Estudo dos componentes fitoquímicos de diversas *Eugénias* revelou a presença de diversos compostos como taninos, flavonóides, óleos essenciais e terpenóides (OLIVEIRA,2007).

Os flavonóides são polifenóis bem abundantes no reino vegetal; apresentam atividades interessantes à utilização do homem. Podemos citar a atividade antioxidante, inibição da enzima lipoxigenase-5, que converte ácido araquidônico em leucotrienos e são mediadores de asma, alergias e 33 inflamação, e também a inibição da via da COX (SIMÕES, 1984; LANDOLFI *et al*, 1984).

Quercetina e luteolina inibem a ativação do sistema complemento, diminuindo a adesão de células inflamatórias ao endotélio, e por consequência, obtêm redução da resposta inflamatória (FRIESENECKER *et al*, 1995). Além do potencial anti-inflamatório dos flavonóides, esses flavonóides também apresentam comprovada atividade gastroprotetora (SANNOMIYA *et al*, 2005).

Do ponto de vista farmacológico, o gênero *Eugenia*, apresenta um vasto potencial, citando a atividade anti-inflamatória, antibacteriana (ADEBAJO, OLOKE & ALADESANMI, 1989; KUSKOSKI *et al*, 2006; OUSSALAH *et al*, 2007; BENFATTI *et al*, 2010), citotóxica, antioxidante (ROESLER, LORENCINI & PASTORE, 2010), antitumoral, tripanocida, antiviral, hipoglicemiante (BRUN & MOSSI, 2010) e estimulante da liberação de insulina (JUNGES, 1997; CONSOLINI & SARUBBIO, 2002; BRAGA *et al*, 2007; MAGINA ET AL., 2010) e mais recentemente a atividade larvicida contra o *aedes aegyptis* (SILVA *et al*, 2015).

Eugenia brejoensis, uma espécie brasileira conhecida como cutia, tem esse nome devido ao seu local de descoberta, florestas úmidas do estado de Pernambuco, popularmente conhecida como “brejos”, cuja população descreveu sua utilização principal em forma de chá contra diarreia (MAZINE, 2008). O óleo essencial das folhas da cutia apresentou efeito larvicida contra e antimicrobiano, segundo estudo conduzido por Silva *et al* (2015).

**CAPITULO II - ARTIGO NO MODELO DA REVISTA PHYTOMEDICINE
- INTERNATIONAL JOURNAL OF PHYTOTHERAPY AND
PHYTOPHARMACOLOGY**

**Estudo da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial
extraído das folhas da *Eugenia brejoensis* MAZINE¹**

Igor Cavalcanti Ferraz^{a*}, René Duarte Martins^a

- a. Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Alto do Reservatório, s/n, 55608-680 Vitória de Santo Antão, PE, Brazil
- Autor para correspondência. Universidade Federal de Pernambuco, Centro acadêmico de Vitória, Alto do Reservatório, s/n, 55608-680 Vitória de Santo Antão, PE, Brasil, Tel.: +55 87 99952 7227.

Endereço de E-mail: Igor.cferraz@hotmail.com

¹ Artigo elaborado a partir do projeto de pesquisa: “estudo de atividades farmacológicas do óleo essencial extraído de *eugenia brejoensis* mazine”.

2.1 RESUMO

Introdução

No Brasil, a família Myrtaceae está representada por 24 gêneros, e aproximadamente 1000 espécies, dando destaque ao gênero *Eugenia*, onde podemos dar destaque a *Eugenia brejoensis*, planta descoberta em 2008 nas florestas úmidas de pernambuco.

Proposta: Levando em consideração dados farmacológicos de outras espécies congêneres de *Eugenia*, é proposto neste projeto a avaliação da ação antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial extraído de folhas da *Eugenia brejoensis* (OEEB) e os possíveis mecanismos envolvidos nas ações farmacológicas detectadas.

Métodos: A averiguação da capacidade toxicológica do óleo foi feita através da aplicação por via oral de uma dose de 3000 mg/kg, de acordo com a diretriz 425 da OECD. Para os demais experimentos, foram utilizadas doses de 30 mg/kg, 100 mg/kg e 300 mg/kg. A atividade antinociceptiva do Oeeb foi avaliada através de modelos como contorção abdominal para averiguação da capacidade analgésica do composto, aplicação intraplantar de formalina para avaliar a atividade antinociceptiva na fase neurogênica e na fase inflamatória da dor e aplicação de capsaicina intraplantar para observar se há participação dos receptores TRPV1 na modulação da dor. A averiguação da atividade motora foi feita através do modelo de campo aberto para garantir que os resultados encontrados não estavam relacionados com a diminuição do nível de consciência do animal e nem com alteração da tonicidade muscular. Já na atividade anti-inflamatória foi utilizada o modelo de inflamação induzida por óleo de cróton, com aplicação única para simulação de inflamação aguda, sendo o tratamento feito através de via tópica e também por via oral.

Resultados: O Oeeb não apresentou atividade tóxica (DL > 3000 mg/kg) no modelo

de contorções. Apresentou resultado satisfatório em todas as doses utilizadas: no teste de formalina, apresentou resultados na fase neurogênica (100 mg/kg e 300 mg/kg) e na fase inflamatória apresentou resultado na dose de 300 mg/kg; no teste de capsaicina obteve resultado satisfatório em todas as doses utilizadas e no teste do campo aberto não houve diferença entre o grupo tratado com o óleo e o controle negativo.

Conclusão: O óleo essencial de *Eugenia brejoensis* não apresenta toxicidade, causa alívio da dor e diminuição da inflamação em modelos experimentais, onde sua forma de atuação pode estar relacionada com a diminuição do estímulo na fase neurogênica e inflamatória da dor, além de modulação por receptores TRPV1 em fibras sensoriais, demonstrando ser uma alternativa viável e segura ao uso de medicações pela população do sertão de Pernambuco.

Palavras-chaves: Antinocioceptivo. Anti-inflamatório. Cutia. Myrtaceae.

2.2 INTRODUÇÃO

No Brasil a família Myrtaceae está representada por 24 gêneros, e aproximadamente 1000 espécies, dando destaque ao gênero *Eugenia*, um dos maiores da família compreendendo cerca de 400 famílias, muitas delas de valores econômicos consideráveis, tanto por sua utilização na saúde da população, alimentícia e ornamental.

Do ponto de vista farmacológico, o gênero *Eugenia* apresenta um vasto potencial, citando a atividade anti-inflamatória, antibacteriana (ADEBAJO, OLOKE AND ALADESANMI, 1989; KUSKOSKI *et al*, 2006; BENFATTI *et al*, 2010; OUSSALAH *et al*, 2007), citotóxica, antioxidante (ROESLER, LORENCINI & PASTORE, 2010), antitumoral, tripanocida, antiviral, hipoglicemiante (BRUN & MOSSI, 2010) e estimulante da liberação de insulina, entre outros (JUNGES, 1997; CONSOLINI & SARUBBIO, 2002; BRAGA *et al*, 2007; MAGINA *et al*, 2010) e mais recentemente, a atividade larvicida (SILVA *et al*, 2015).

Mais recentemente em 2008, outra espécie de *Eugenia* foi descoberta e descrita no nordeste brasileiro. Essa espécie foi denominada como *Eugenia brejoensis*, devido ao seu local de descoberta, florestas úmidas do estado de Pernambuco, popularmente conhecida como “brejos”. A população descreveu sua utilização principal em forma de chá contra diarreia (MAZINE, 2008)

Portanto, levando em consideração dados farmacológicos de outras espécies congêneres de *Eugenia*, é proposto neste projeto a avaliação da ação antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial extraído de folhas da *Eugenia brejoensis* (OEEB) e os possíveis mecanismos envolvidos nas ações farmacológicas detectadas.

2.3 MATERIAL E METODOS

Drogas e Reagentes

O ácido acético e formaldeído 37 % foram da Merck (Brasil, São Paulo). A capsaicina , indometacina , (Cremophor) foram da Sigma (EUA , St. Louis) . Morfina e naloxona foram adquiridos de Cristália (Brasil, São Paulo), enquanto diazepam era de União Química (Brasil, São Paulo). Todos os outros reagentes e substâncias eram de grau analítico .

Animais

Todos os experimentos com uso de animais foram submetidos à aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) e aprovados de acordo com o processo nº 23076.023319/2013-58.

Foram utilizados camundongos *Swiss* machos adultos, procedentes do Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e do biotério da Universidade Federal de Pernambuco - Centro acadêmico de Vitória (UFPE-CAV), mantidos no

biotério do Centro Acadêmico de Vitória e no departamento de Antibióticos no Biotério do Laboratório de etnofarmacologia aplicada (LEA), em ciclo claro/escuro de 12 h, à temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, recebendo água e comida *ad libitum*.

AValiação Toxicológica

Determinação da DL50

Para a determinação da toxicidade aguda do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* foi realizado o teste de dose limite de 3000 mg/kg de acordo com a diretriz 425 da OECD (OECD, 2001).

A dose testada foi fracionada em 4 aplicações e administradas no período de 12h. Um animal foi testado na dose de 3000 mg/kg do óleo essencial por via oral (v.o) e observado se algum iria a óbito nas 48h seguintes. Após este período, outros 4 animais foram testados sequencialmente com a mesma dose e sob as mesmas condições e observados por 14 dias.

AValiação Antinociceptiva

Contorção abdominal induzida por ácido acético

Foram utilizados cinco grupos contendo 6 camundongos cada. O OEEB foi submetido a este modelo geral para avaliação de características analgésicas de acordo com o método descrito por Kroster *et al* (1959) e adaptado por Nogueira *et al* (2015).

Todos os grupos foram tratados por via oral (v.o). Um grupo recebeu o veículo (Cremophor 0,5%), outros três grupos receberam o óleo essencial de *Eugenia*

brejoensis, nas seguintes doses: 30, 100 e 300 mg/kg, respectivamente, e por fim, um grupo recebeu a indometacina a 10 mg/kg.

Após 1 hora do tratamento, foi injetado em cada animal por via intraperitoneal, 0,1ml/10g de ácido acético 0,6% e após 10 min de sua administração as contorções abdominais foram contadas durante vinte minutos.

Formalina intraplantar

Foram utilizados cinco grupos contendo 8 camundongos cada. Neste modelo, o OEEB é utilizado para medir sua efetividade como agente antinociceptivo de método, descrito por Hunskaar; Hole *et al* (1987) e adaptado por Nogueira *et al* (2015).

Neste experimento os animais foram tratados por via oral (v.o). Um grupo recebeu o veículo (Cremophor 0,5%), outros três grupos receberam o óleo essencial de *E. brejoensis*; cada grupo com uma dose diferente (30, 100 e 300 mg/kg, respectivamente) e, por fim, um grupo recebeu a Morfina a 7,5 mg/kg.

Após 1 hora do tratamento, foi injetado em cada animal por via intraplantar, 20 µL de formalina 2% e imediatamente iniciaram-se as contagens de lambidas da pata entre 0-5 minutos e 20-25 minutos, após administração da formalina 2%

Capsaicina intraplantar

Foram utilizados cinco grupos contendo 8 camundongos cada, a fim de avaliar a participação dos receptores TRPV 1 na modulação da dor, através do método descrito por Santos *et al*, (2003) e adaptado por Nogueira *et al* (2015).

Todos os grupos foram tratados por via oral (v.o). Um grupo recebeu o veículo (Cremophor 0,5%), outros três grupos receberam o óleo essencial de *E. brejoensis*, cada grupo com uma dose diferente (30, 100 e 300 mg/kg, respectivamente).

Após 1 hora do tratamento, foi injetado em cada animal por via intraplantar, 20 µL de capsaicina (1,6 µg preparada em PBS) e imediatamente iniciaram-se as contagens de lambidas de pata entre 0-5 minutos após a administração, contabilizando o tempo de lambidas como indicativo de nocicepção.

Teste do campo aberto

Para este experimento, os animais foram divididos em três grupos (n = 8), e tratados com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* na maior dose utilizada nos experimentos, correspondente a 300 mg/kg (v.o), Cremophor a 0,5% (v.o) e Diazepam 2 mg/Kg. A atividade motora dos animais foi verificada por meio de um campo aberto de 30 x 30 x 15 cm, com paredes transparentes de Vidro e piso preto dividido em nove quadrantes iguais, baseado no modelo descrito por Nogueira *et al* (2015).

Após 1 hora dos tratamentos, os animais, um por vez, foram colocados no centro do campo aberto onde o número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea), o número de comportamentos de autolimpeza (Grooming) e o número de levantamentos do animal sobre as patas traseiras sem encostar-se à parede (rearing), foram observados durante o tempo de 5 minutos, após 1 min de aclimatação no aparato.

AVALIAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA

Edema de orelha induzido por óleo de cróton com tratamento sistêmico

Para o experimento foram utilizados 5 grupos com $n=8$ animais. Os animais foram tratados por via oral e após 1 hora foram anestesiados com Halotano para a aplicação de 20 μL óleo de cróton a 2% diluído acetona na superfície interna e externa da orelha direita dos animais, orelha esquerda recebeu somente acetona que funciona como controle negativo. A resposta inflamatória foi avaliada após seis horas retirando as orelhas dos camundongos e pesando-as.

Edema de orelha induzido por óleo de cróton com tratamento tópico

Para o experimento, foram utilizados 5 grupos com $n=8$ animais. Os animais foram anestesiados com Halotano. Um grupo recebeu apenas 20 μL óleo de cróton a 2% em acetona, sendo aplicado na superfície interna e externa da orelha direita dos animais. Em seguida, os demais grupos receberam o OEEB e o fármaco-padrão (indometacina) diluídos no mesmo volume de acetona e aplicado na orelha direita. A orelha esquerda recebeu somente acetona que funciona como controle negativo. A resposta inflamatória foi avaliada após seis horas retirando e pesando as orelhas.

Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média e com intervalo de significância fixado em $p < 0,05$ analisados por ANOVA, com pós teste de Bonferroni através do *software* estatístico *GraphPad Prism* versão 5.0.

2.4 RESULTADO

Identificação dos constituintes do óleo essencial extraídos das folhas da *Eugenia brejoensis*

Nº	Indetificação do componente ^a	Determinado ^b	literatura ^c	Conteúdo (em% do total de óleo)
1	<i>α-Cubebene</i>	1351	1348	0,25
2	<i>α-Copaene</i>	1377	1374	0,79
3	<i>β-Elemene</i>	1393	1389	1,22
4	<i>α-Gurjunene</i>	1411	1409	2,83
5	<i>β-(E)-Caryophyllene</i>	1421	1417	34,4
6	<i>β-Copaene</i>	1431	1430	0,36
7	<i>β-Gurjunene</i>	1434	1431	0,05
8	<i>Aromadendrene</i>	1441	1439	1,2
9	<i>trans-Muurola-3,5-diene</i>	1452	1451	0,11
10	<i>α-Humulene</i>	1455	1452	1,5
11	<i>Caryophyllene <9-epi-(E)-></i>	1463	1464	2,33
12	<i>trans-Cadina-1(6),4-diene</i>	1475	1475	1,25
13	<i>γ-Murolene</i>	1478	1478	1,14
14	<i>β-Selinene</i>	1490	1489	0,34
15	<i>trans-Muurola-4(14),5-dien</i>	1494	1493	0,02
16	<i>Bicyclogermacrene</i>	1502	1500	7,93
17	<i>γ-Cadinene</i>	1516	1513	5,94
18	<i>δ-Cadinene</i>	1526	1522	2,60
19	<i>trans-Cadina-1,4-diene</i>	1534	1533	0,63
20	<i>α-Cadinene</i>	1540	1537	1,06
21	<i>α-Calacorene</i>	1545	1544	0,19
22	<i>Palustrol</i>	1570	1567	0,13
23	<i>Spathulenol</i>	1580	1577	3,28
24	<i>Viridiflorol</i>	1594	1592	0,08
25	<i>Guaiol</i>	1600	1600	1,61
26	<i>Cubenol <1,10-di-epi-></i>	1618	1618	0,31
27	<i>Cubenol <1-epi-></i>	1627	1627	0,92
28	<i>α-Muurolol</i>	1644	1644	9,34
29	<i>α-Cadinol</i>	1652	1652	8,49
30	<i>Bulnesol</i>	1670	1670	0,08
31	<i>Shyobunol</i>	1688	1688	0,07
	Sesquiterpenes hydrocarbons			62,66
	Oxygenated sesquiterpenes			26,64
	Unidentified compounds			9,92
	Total			99,22

^aConstituintes listados por ordem de eluição em um não- polar coluna DB-5 ; ^b índices de retenção (RI) calculada a partir tempos de retenção em relação aos de uma série de C9 - C30 n -alcanos em uma coluna capilar DB-5 de 30 m ; ^c Os valores retirados de Adams , 2007 ; - : Não detectado

Determinação da DL50

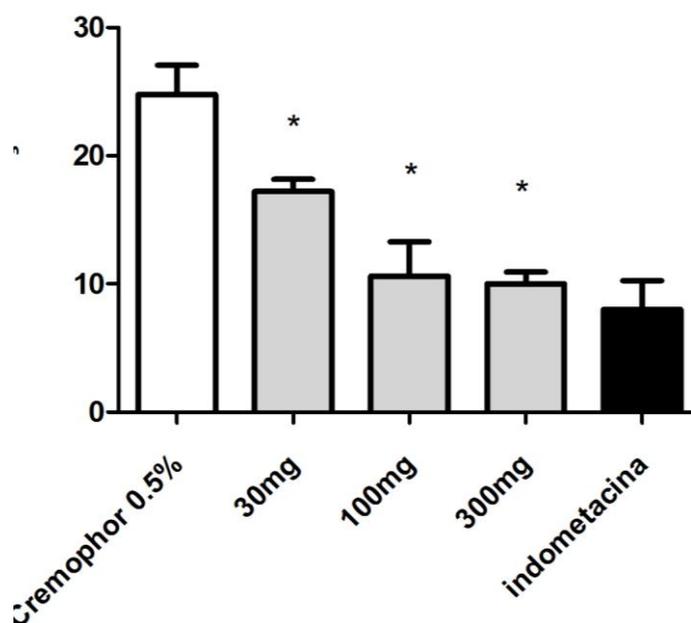
Após 14 dias de observação após a aplicação de 3000 mg/kg, nenhum dos 5 animais testados veio a óbito. No atestado ficou indicado que a dose letal média (DL50) é superior a 3000 mg/kg.

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA

Contorção abdominal

Após 20 minutos de contagem, os grupos apresentaram os seguintes valores para contorção abdominal: o grupo que recebeu cremophor 0.5% obteve média de $24,80 \pm 2,26$ contorções enquanto o tratado com indometacina apresentou média de $8,00 \pm 3,26$ contorções; já os grupos de óleo essencial 30, 100 e 300 mg/Kg apresentaram médias de $17,20 \pm 1,51$, $10,60 \pm 2,69$ e $10,00 \pm 1,93$ contorções respectivamente.

Figura 1 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*, v.o. e indometacina 10mg/Kg, v.o no modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,6% em camundongos.



Fonte: Autor. (*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo. Dados expressos como média ± EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Teste da formalina intraplantar

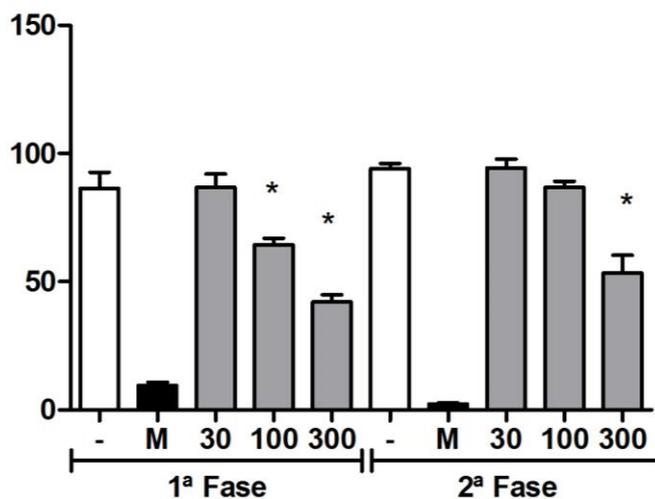
Na análise da primeira fase, o grupo controle (Cremophor 0.5%) obteve um tempo médio de lambida de 86.34 ± 6.210 , já o grupo morfina obteve 9.512 ± 1.213 .

Os grupos experimentais de OEEB, apresentaram os seguintes resultados: o grupo 30mg obteve média de $85,75 \pm 5,361$; o grupo 100mg obteve $64,43 \pm 2.515$; já o grupo 300mg obteve $42,00 \pm 2,930$.

Já na segunda fase do experimento, o grupo controle (Cremophor 0.5%) apresentou uma média de $94,13 \pm 2.432$, o grupo morfina apresentou 2.250 ± 0.591 .

O grupo experimental de 30mg apresentou média de 94.33 ± 3.528 ; o grupo 100mg obteve média de 86.83 ± 2.344 já o grupo 300mg apresentou 53.43 ± 6.897 .

Figura 2 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*, v.o. e Morfina 7,5mg/Kg, v.o no modelo de formalina intraplantar para avaliação de dor.



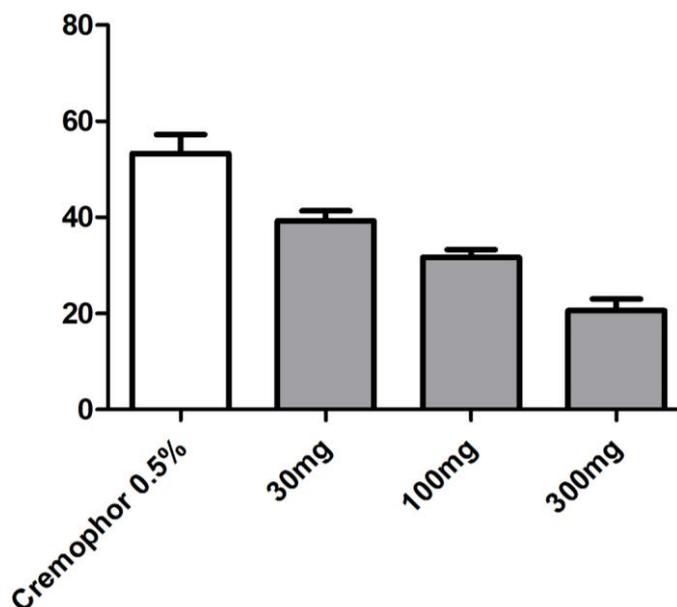
(*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo;

Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

Teste da capsaicina intraplantar

Após a contagem dos grupos foram obtidos os seguintes tempos de lambida: o grupo veículo obteve uma média de 53.33 ± 3.879 ; já os grupos experimentais obtiveram as seguintes médias: o grupo 30mg apresentou 39.35 ± 2.044 , o grupo 100mg obteve 31.71 ± 1.554 e o grupo 300mg 20.67 ± 2.376 .

Figura 3 - Atividade antinociceptiva do óleo essencial de *Eugenia brejoensis*, no modelo de capsaicina intraplantar para avaliação de dor.



(*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo;

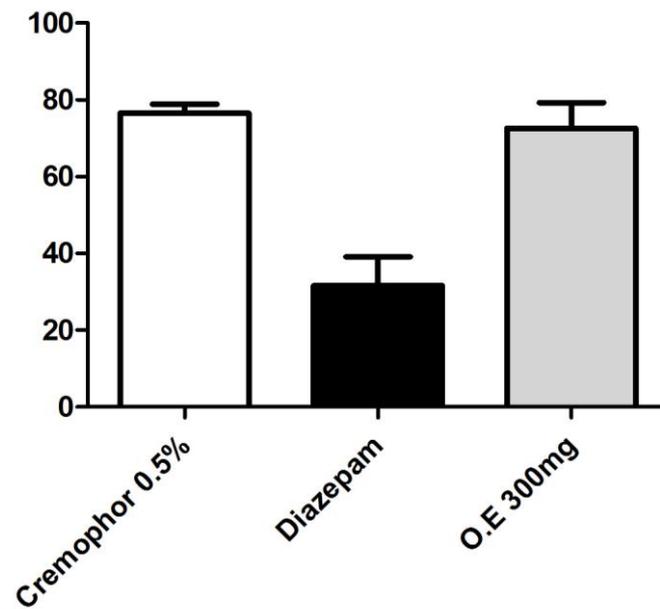
Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

Teste do campo aberto

Após o término do experimento, os grupos obtiveram os seguintes valores no parâmetro de cruzamento espontâneo: o grupo Cremophor 0.5% obteve média de $76,57 \pm 2,287$ cruzamentos; o grupo Diazepam obteve uma média de $31,67 \pm 7,482$ e o grupo óleo essencial obteve $72,67 \pm 6,642$ em números de cruzamento conforme a figura 3.

Já no quesito autolimpeza o grupo controle obteve uma média de $1,429 \pm 0,3689$, o grupo Diazepam obteve os seguintes valores de média $0,1667 \pm 0,1667$, enquanto o grupo experimental OEEB obteve $3,000 \pm 1,095$ conforme a figura 4.

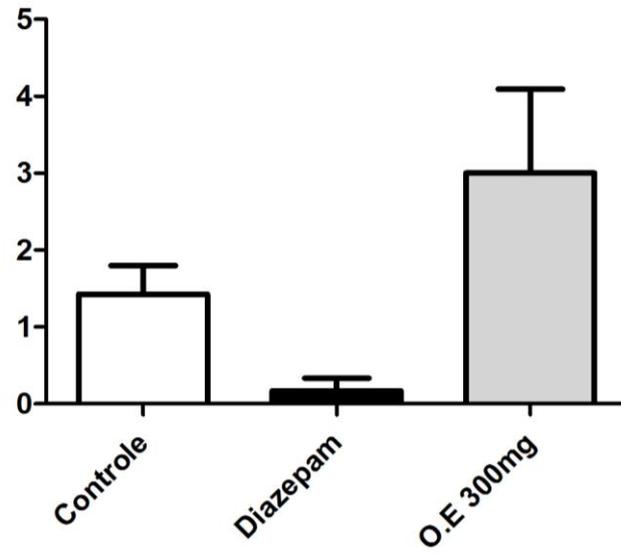
Figura 4 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejenses* e diazepam e cremophor 0,5% no número de cruzamentos executados por camundongos submetidos ao teste do campo aberto.



Fonte: Autor

O.E. óleo essencial de *Eugenia brejoensis* (*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo; (a) Diferença significativa em relação ao O.E. 300 mg; Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

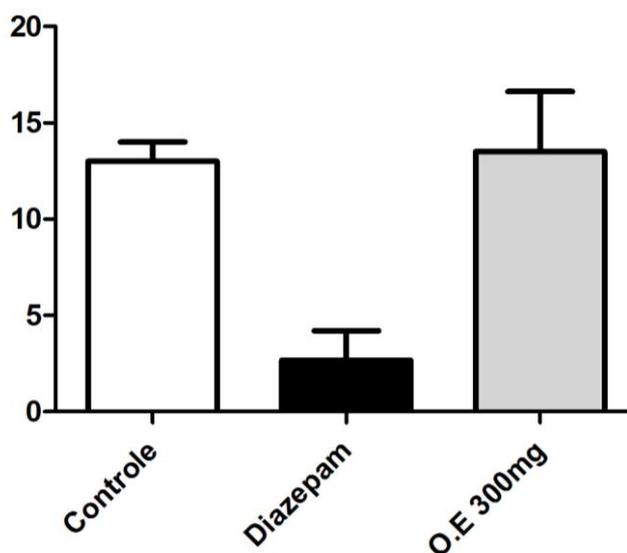
Figura 5 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e diazepam e cremophor 0,5% no número de comportamento de auto-limpeza no teste do campo aberto.



Fonte: Autor

O.E: óleo essencial de *Eugenia brejoensis*(*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo; (a) Diferença significativa em relação ao O.E 300 mg; Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

Figura 6 - Efeito do tratamento com óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e diazepam e cremophor 0,5% no número de Levantamentos



Fonte: Autor

O.E: óleo essencial de *Eugenia brejoensis* (*) Diferença significativa em relação ao grupo veículo; (a) Diferença significativa em relação ao O.E 300 mg; Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni

ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

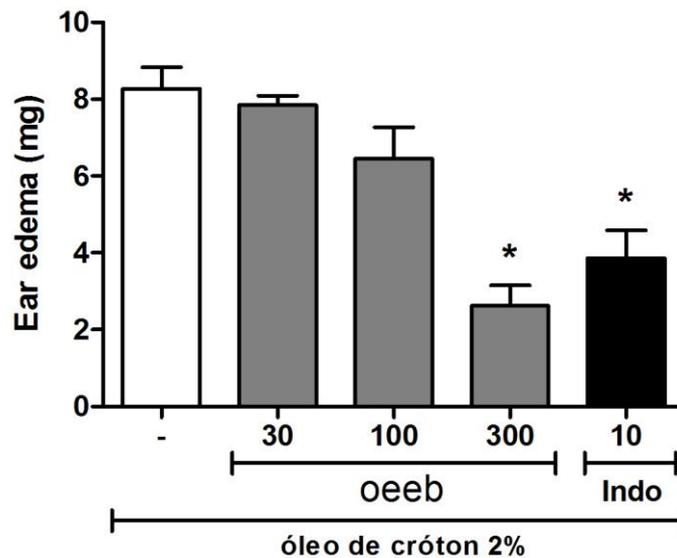
Edema de orelha por óleo de Cróton com tratamento sistêmico

Após o termino do experimento, as orelhas foram pesadas e obtiveram os seguintes valores na pesagem: o grupo veículo obteve uma média de $8,271 \pm 0,5559$; o grupo indometacina obteve média de $3,861 \pm 0,7273$.

Já os grupos que receberam óleo essencial por via oral obtiveram os seguintes valores:

o grupo 30mg obteve média de $7,843 \pm 0,2471$; o grupo 100mg obteve $6,452 \pm 0,8188$ e, por fim, o grupo 300mg, que teve como média $2,623 \pm 0,5283$.

Figura 7 - Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e indometacina 10mg/Kg v.o no modelo de edema de orelha por óleo de cróton com tratamento sistêmico em camundongos.



Fonte: Autor

(*) Diferença significativa em relação ao grupo tratado com veículo (Cremophor 0,5%) Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

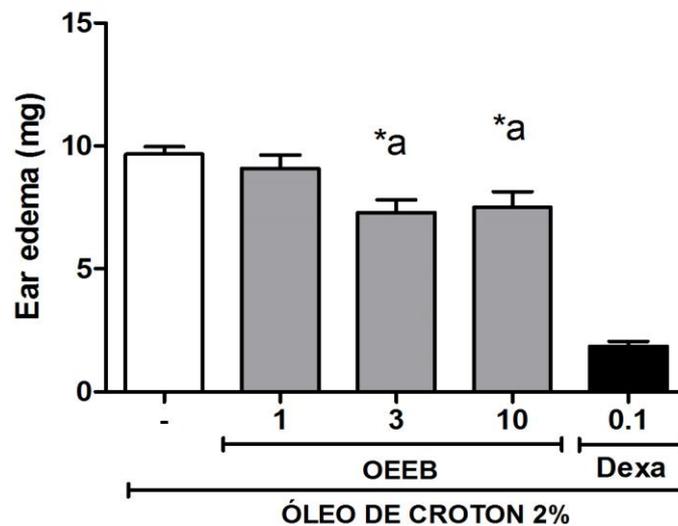
Ear = External auditory

Edema de orelha por óleo de Cróton com tratamento tópico

Após o termino do experimento, as orelhas foram pesadas e obtiveram os seguintes valores, o grupo veículo obteve uma média de $9,666 \pm 0,3087$ já o grupo dexametasona obteve média de $1.852 \pm 0,2027$.

Já os grupos que receberam óleo essencial por via tópica obtiveram os seguintes valores, o grupo $1 \mu\text{l}$ obteve média de $9.084 \pm 0,5527$, já o grupo $3 \mu\text{l}$ obteve $7.297 \pm 0,5084$ e por fim o grupo $10 \mu\text{l}$ que teve como média 7.508 ± 0.6383 .

Figura 8 - Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Eugenia brejoensis* e indometacina 10mg/Kg V.T no modelo de edema de orelha por óleo de cróton com tratamento tópico em camundongos.



Fonte: Autor

(*) Diferença significativa em relação ao grupo tratado com veículo (Cremophor 0,5%)

(a) Diferença significativa em relação ao grupo tratado com dexametasona, Dados expressos como média \pm EPM, e analisados por ANOVA com pós-teste de Bonferroni.

Ear = External auditory

2.5 DISCUSSÃO GERAL

A análise química do OEEB permitiu identificar 31 componentes, sendo o Beta-cariofileno o marjoritário, com 34,4% do total do óleo, Silva et al (2015) no estudo da composição química e atividade larvicida do óleo essencial de eugenia brejoensis, identificou 30 quimiotipos, porém havendo grande semelhança entre as duas análises observando-se basicamente os mesmos compostos majoritários, porém em concentrações diferentes

O beta-cariofileno é um sesquiterpeno bicíclico da família do cariofileno cuja presença é demonstrada em diversos óleos essenciais de plantas onde podemos citar o cravo (*Eugenia caryophyllaya*), resina da copaíba (copaíba sp.) (Pimenta-preta (*piper nigrum*), maconha (*cannabis sativa*) erva de são João (*aregantum conyzoides*), onde essas plantas apresentaram atividades anti-inflamatórias e

antinocioceptivas em estudos, dando indícios que a *eugenia brejoensis* também poderia apresentar atividade em tais parâmetros

Em estudo conduzido Ghelardini et al (2001) demonstrou que o beta-cariofileno apresenta uma potente atividade anestésica local em caráter de dose-resposta através da redução da excitabilidade elétrica das células, Klauke et al (2014) demonstrou que o beta-cariofileno atua nos receptores canabinoides CB2, assim possuindo um efeito antinocioceptivo e anti-inflamatório, sendo seu efeito contra a dor por bloqueio de vias descendentes e o efeito anti-inflamatório relacionado a sua atuação no sistema imunológico e bloqueando a produção de interleucinas pró-inflamatórias através da produção de IL-10 responsável pela modulação de macrófagos ativados e inibição de IL-12 e TNF

No ensaio de toxicidade aguda tentou se caracterizar os prováveis efeitos tóxicos da administração da dose de 3000 mg/kg do OEEB, onde não se observou nenhuma alteração toxicológica relacionada a dose administrada. Esse teste torna-se uma avaliação importante para o início de qualquer pesquisa com materiais ou extratos oriundos de plantas, pois serve para fornecer subsídios sobre o modo de ação tóxico da substância testada e determinante para a continuidade da pesquisa de produtos naturais (BRITO, 1994).

A utilização do modelo de contorção abdominal serve como modelo químico de triagem não seletivo para drogas analgésicas, tanto de caráter narcótica quanto não-narcóticos, através da indução de vaso constrição generalizada de vasos da parede abdominal que leva a contorção muscular da região (KOSTER; ANDERSON; DE BEER, 1959).

A administração de ácido acético por via I.P acarreta a liberação de mediadores necessários e presentes no processo inflamatório, como as citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α , prostaglandinas, BK entre outros, sendo considerado, portanto, um típico modelo de nocicepção inflamatória visceral (RIBEIRO *et al*, 2000).

O resultado obtido neste modelo demonstra uma aparente dose-resposta do OEEB utilizado e também corrobora com outros achados da literatura para a ação antinocioceptiva da família *eugenia*, como em Guimaraes *et al* (2012), que demonstra a atividade analgésica do óleo essencial de *Eugenia candolleana* no modelo de contorção abdominal. Podemos citar também Daniel (2008), que utiliza o óleo

essencial da *Eugenia caryophyllata* nesse mesmo modelo, obtendo resultados satisfatórios para o mesmo.

O teste de formalina intraplantar foi criado e apresentado à comunidade científica em 1977 por Dubuisson e Dennis. Esse teste demonstra diferenças quando comparado o modelo de contorção abdominal, acreditando-se que os resultados obtidos são os mais próximos à dor clínica, já que o animal é exposto a uma dor moderada e contínua, ocasionada pela lesão tecidual diferentemente da contorção que se baseia em estímulos físicos de alta intensidade e curta duração, dificultando a visualização de mecanismos modulatórios (DUBUISSON & DENNIS, 1977).

O teste de formalina é dividido em duas fases distintas. A primeira fase que se inicia logo após a administração intraplantar da formalina, dura proximamente 3 a 5 minutos. A dor envolvida nesta fase está ligada a ativação química direta dos nociceptores e consequente ativação das fibras aferentes primárias e subsequente liberação de substâncias como SP e GPRC (TJOLSEN *et al.*, 1992). Após essa 1ª fase, em um período de 10 a 15 de ausência quase total de respostas nociceptivas, cujo período é conhecido como período de quiescência, as vias descendentes inibitórias da dor atuam fazendo bloqueio quase total do estímulo. Por fim; inicia-se a segunda fase ou fase inflamatória da dor, esta fase está relacionada a sensibilização periférica através de substâncias como serotonina, histamina, bradicinina, óxido nítrico e prostaglandinas estão envolvidos na fase inflamatória (GARCÍA *et al.*, 2004).

Os resultados obtidos neste estudo apontam para um efeito antinociceptivo do OEEB, tanto na fase neurogênica quanto na fase inflamatória. Em relação à primeira fase, as doses de 100mg e 300mg apresentaram um resultado em dose-resposta; já na segunda fase apenas a dose de 300mg obteve atividade antinociceptiva. Esse resultado corrobora com o estudo de Basting (2012), no qual foi testado o extrato da *Eugenia punicifolia*, que demonstrou também atividade antinociceptiva nas duas fases do teste.

A capsaicina (8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) é o princípio ativo da pimenta vermelha, *Capsicum annum* L. cujo uso tem sido bem aceito na farmacológica, pois demonstra-se útil para o estudo de subtipos de fibras sensoriais primárias, incluindo os nociceptores polimodais e termoreceptores (JANCSO, 1978).

Foi demonstrado em estudos que a nocicepção produzida pela capsaicina é modulada majoritariamente pela ativação do receptor TRPV1 que promove o influxo de cátions causando estimulação nociceptiva direta das fibras aferentes primárias. (SZALLASI *et al*, 1993; CATERINA *et al*, 1997; TOMINAGA *et al*, 1998).

A ativação do TRPV1 também acarreta a liberação de neuropeptídeos, aminoácidos excitatórios, óxido nítrico e mediadores inflamatórios, os quais contribuem para a sensibilização e ativação das fibras aferentes nociceptivas (SZALLASI *et al*, 1993; SAKURADA *et al*, 2003).

O presente estudo demonstrou que o tratamento sistêmico do óleo essencial da *eugenia brejoensis* em todas as doses diminuiu a nocicepção causada pela administração intraplantar de capsaicina, o que sugere que seu efeito antinociceptivo pode estar relacionado a uma ação antagonista oriunda do receptor trpv 1.

O edema de orelha produzido por um agente flogístico, o caso deste estudo, o óleo de crotón através de aplicação única é um modelo bem esclarecido e utilizado para averiguação de substâncias anti-inflamatórias tanto de caráter esteroidais (por V.O) quanto DAINES (por V.T), fornecendo dados quanto à atividade antiedematogênica de uma substância num processo inflamatório agudo (SCHIANTARELLI *et al* 1982).

O edema causado pela administração do óleo de croton é decorrente da vasodilatação e do aumento da permeabilidade vascular induzida pelo TPA (acetato de tetradecanoil-forbol), no qual há a liberação de substâncias mediadoras inflamatórias como prostaglandinas, serotonina e histamina (SCHIANTARELLI *et al*. 1982;)

Neste estudo, foi utilizado tanto o tratamento tópico quanto o sistêmico para averiguar sob qual via o OEEB poderia exercer uma melhor atividade anti-inflamatória. No estudo com tratamento por via oral, o OEEB obteve resultado na dose de 300 mg/kg, porém, este demonstrou uma atividade anti-inflamatória melhor do que a droga padrão utilizada (indometacina). Já com o tratamento tópico, obtiveram-se resultados discretos nas doses de 100 mg e 300 mg, o que sugere que o óleo pode atuar sobre enzimas como a cox e lox.

O teste do campo aberto é um modelo experimento comportamental e neuromotor desenvolvido por Hall (1939), onde o camundongo é posto em um ambiente novo e controlado, a fim de averiguar sua resposta a ele, tornando evidente p seu nível de ansiedade. Algumas drogas, porém, têm a capacidade de alterar essa resposta por diminuir a tonicidade muscular ou diminuir a atividade do SNC, como é o caso dos relaxantes musculares e compostos sedativos, camuflando, assim, o resultado (ARCHER, 1973; NOGUEIRA *et al*, 2015).

No estudo realizado por Colla *et al* (2012), verificou-se a atividade sobre o sistema nervoso de 5 gêneros de *Eugenia* (*Eugenia uniflora*, *Eugenia beaurepaireana*, *Eugenia catharinae*, *Eugenia umbeliflora* e a *Eugenia brasiliensis*). Esse processo foi realizado através do teste de campo aberto e observou-se que estas *Eugenias* não alteravam os parâmetros de tonicidade muscular e nível de consciência, demonstrando, assim, que a atividade antinocioceptiva da *Eugenia brejoensis* não está relacionada com a alteração do nível de consciência dos camundongos e nem com alteração da tonicidade muscular.

A análise dos resultados do OEEB na concentração de 300mg demonstrou que sua capacidade analgésica, observada no teste de contorções abdominais, formalina e capsaicina não está relacionada com alterações de tonicidade muscular ou de sedação, tendo em vista que não houve diferença estatística entre o grupo experimental e o controle e nenhum dos parâmetros avaliados (cruzamentos, autolimpeza e levantamentos).

2.6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados demonstrados neste trabalho, é possível sugerir que o óleo essencial extraído das folhas de *Eugenia brejoensis* apresentou:

- DL 50 > 3000 mg/kg demonstrando segurança no de uso.
- Atividade antinociceptiva para estímulos nociceptivos diretos e inflamatórios.
- Inibição dos Efeitos do envolvimento dos receptores TRPV, na modulação da dor.
- Não apresenta efeito estimulante ou sedativo do sistema nervoso central.

- Boa atividade anti-inflamatória por via oral, sugerindo participação da via do ácido araquidônico
- Baixa atividade anti-inflamatória tópica.

2.7. REFERÊNCIAS

ABBASI, A. M.; KHAN, M. A.; AHMAD, M.; ZAFAR, M.; JAHAN, S.; SULTANA, S. Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province, Pakistan. *J. Ethnopharmacology* 128, p. 322-335, 2010.

ADEBAJO, A.C.; OLOKE, K.J.; ALADESANMI, A. J. Antimicrobial activities and microbial transformation of volatile oils of *Eugenia Uniflora*. *Fitoterapia*, v.50, p. 451-455. 1989.

ALMEIDA, J., ORFAO, A., OCQUETEAU, M., MATEO, G., CORRAL, M., CABALLERO, M.D., MORO, M.J., HERNÁNDEZ, J., SAN MIGUEL, J.F. (1999) High-sensitive immunophenotyping and DNA ploidy studies for the investigation of minimal residual disease in multiple myeloma. *British Journal of Haematology*, 107, 121-131.

AMOROZO, M.C.M. Agricultura tradicional, espaços de resistência e o prazer de plantar. *Atualidades em etnobiologia e etnoecologia*. Recife: SBEE, 2002. p.123-131.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-Inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populonic acid from bark wood Of *Austroplenckia Populnea*. *Journal Of Ethnopharmacology*, v.109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANIEL, APPARECIDO N. *et al.* Anti-Inflammatory And Antinociceptive Activities A Of Eugenol Essential Oil In Experimental Animal Models. *Rev. Bras. Farmacogn.* [Online]. 2009, vol.19, n.1b, pp. 212-217. Issn 1981-528x. [Http://Dx.Doi.Org/10.1590/S0102-695x2009000200006](http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695x2009000200006).

ARAÚJO Cc; ASHMAWI HÁ, De Paulai. Sexo e percepção da dor e analgesia. *Rev.Bras. Anestesiol*; 61 (6): 814-828, 2011.

ARAÚJO, ÉVERTON JOSÉ FERREIRA De *et al.* Aspectos toxicológicos da planta medicinal *Casearia Sylvestris Swartz*: Revisão de literatura. *Revista De Ciências Farmaceuticas Básica Aplicada*, Teresina, v. 5, n. 35, p.355-361, 01 ago. 2015. Disponível em: <[Http://200.145.71.150/Seer/Index.Php/Cien_Farm/Article/View/2874/1596](http://200.145.71.150/Seer/Index.Php/Cien_Farm/Article/View/2874/1596)>. Acesso em: 01 jan. 2016.

ARAÚJO, T. A. S; LIMA, E.A.G; SILVEIRA, O.F.V Tânicos e flavonóides em plants medicinais da caatinga: um estudo de Etnobotânica Quantitativa (2008) Archer J. Tests For Emotionality In *Rats And Mice: A Review. Anim Behav*, Vol. 21, Num. 35, 1973.

ARNOLD JR, H.L, ODOM R.B, JAMES W.D. *A Pele*: Estrutura básica e função. Doenças básicas da pele de Andrews: dermatologia clínica;. P.1-14. 2004

AZEVEDO, P. R. , L. C. N. ; SILVA, A. G. ; MACEDO, A. J. ; ARAÚJO, J. M. ; SILVA, M. V. Antimicrobial activity and phytochemical screening of branches, fruits and leaves of *Eugenia Brejoensis*. **Scientia Plena** v. 8, n. 5, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and chemical toxicology** 46, 446–475, 2008.

BAUER AW; KIRBY Wm; SHERRIS Jc; TURCK M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Of Clinical Pathology** 45:493-496. 1966.

BENFATTI et al. Atividade antibacteriana in vitro de extratos brutos de espécies de *Eugenia* Sp frente a Cepas De Mollicutes. **Revista Pan Amazônica de Saúde**, vol. 1, 2010.

BENFATTI, C.S.; CORDOVA, S.M.; GUEDES, A.; MAGINA, M.D.A.; CORDOVA, C.M.M. Atividade antibacteriana in vitro de extratos brutos de espécies de *Eugenia* Sp frente a Cepas De Mollicutes. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, p.33-39. 2010.

BRAGA, F.G.; BOUZADA, M.L.; RODRIGO, M.; FABRI, L.; MATOS, M.O.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E.S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal Of Ethnopharmacology**, v.111, p.396–402. 2007.

BRASIL, PROGRAMA NACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS / MINISTÉRIO DA SAÚDE, SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS, DEPARTAMENTO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. Brasília, 2009. Brasil. **Fitoterapia no Brasil**. Disponível em: <[Http://Www.Ministerioeducacao.com.br/Farmacia/Artigos/16738/Fitoterapia-No-Brasil](http://www.Ministerioeducacao.com.br/Farmacia/Artigos/16738/Fitoterapia-No-Brasil)>. Acesso em: 16 ago. 2013

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC nº. 10, de 09 de março de 2010a. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF: 2010.

BRASIL. ANVISA. INSTRUÇÃO NORMATIVA nº. 5, de 31 de março de 2010b. Estabelece a lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF: 2010.

BRASIL. ANVISA. Resolução RDC nº. 17, de 16 de abril de 2010c. Dispõe sobre boas práticas de fabricação de medicamentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF: 2010.

BRASIL. ANVISA. Medicamentos Fitoterápicos. Disponível em: Acesso em: 14 mar 2012a.

BRITO, A. R. M. S. Toxicidade aguda (dose simples e doses repetidas), subcrônica e crônica. In: BRITO, A.R.M.S. **Manual de ensaios toxicológicos in vivo**. Campinas: Ed. UNICAMP; Rio de Janeiro: Ed. Três, p.15-50. 1994.

BRUN, G.R Gronert.; MOSSI, A.J. Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo volátil ve pitanga (*Eugenia Uniflora* L.). **Perspectivas online, biológicas e. saúde**, v.34, p.135-142. 2010.

BUSSOTTI, tacci, A., GROSSONI, P., MORI, B. and TANI, C. Cytological and structural changes on Pinus Pinea L. Needles following the application of an anionic surfactant. **Plant Cell And Environment**, 20, 513-520. 1997.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p. 223-53, 2004.

CARVALHO ACB, BALBINO EE, MACIEL A, PERFEITO JPS. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev Bras Farmacogn** 18: 314-319. 2008.

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

CARNEIRO, Fernanda Melo *et al.* Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência: Sociedade, Saberes E Práticas Educacionais**, Goiana, v. 2, n. 3, p.44-75, jul. 2014.

CATERINA, M. J.; A. LEFFLER, A. B.; MALMBERG, W. J.; MARTIN, J.; TRAFTON, K. R.; PETERSENZEITZ, M.; KOLTZENBURG, A. I.; BASBAUM E D.; JULIUS. Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. **Science**, v.288, n.5464, apr 14, p.306-13. 2000.

CHEN, C.C.; MO, F.E.; LAU, L.F. The angiogenic factorcyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. **J. Biol. Chem.**, v. 276, p. 47329-46337, 2001.

CLISH, Clary B.; A. O'BRIEN, Jennifer; KARSTEN; STAHL, Gregory L.; PETASIS†, NICOS A. and SERHAN, Charles N.. Local and systemic delivery of a stable Aspirin-Triggered Lipoxin prevents neutrophil recruitment In **Vivo Pharmacology**, v. 96, p. 8247–8252, 1999.

COLEMAN, J. W. Nitric oxide: a regulator of mast cell activation and mast cell-mediated inflammation. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 129, p. 4-10. 2002.

COLLA, A. R. S. et al. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressantlike effect of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) in the tail suspension test in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, Aug. 2012.

CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia Uniflora* L. (Mytaceae) as antihypertensive. **Journal Of Ethnopharmacology**, v.66, p.33-39. 1999.

CONTRAN, R S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. Robbins: **Patologia estrutural e funcional**. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 44-100.

COSTA, G. ; FRANCISCO V. ; LOPES, M.C. ; CRUZ, M.T. ; BATISTA, M.T. Intracellular Signaling Pathways Modulated by Phenolic Compounds: Application for New Anti-Inflammatory Drugs Discovery. **Current Medicinal Chemistry**, v.19, p. 2876-2900. 2012.

CRAVEIRO, A. A; RODRIGUES, C. H; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; ALENCAR, J. W; MACHADO, Mil. Volatile constituents of Brazilian Euphorbiaceae Genus *Croton*. **J Nat Prod**, v.44, p. 602–608, 1981.

DANIEL, Aparecido N. *et al*. Anti-inflammatory and antinociceptive activities a of Eugenol Essential Oil in experimental animal models. **Rev. Bras. Farmacogn.**, João Pessoa , v. 19, n. 1b, p. 212-217, mar.2009 . Available from <Http://Www.Scielo.Br/Scielo.Php?Script=Sci_Arttext&Pid=S0102-695x2009000200006&Lng=En&Nrm=Iso>. Access on 12 Jan. 2016. Http://Dx.Doi.Org/10.1590/S0102-695x2009000200006.

DAVIES, Andrew. **Fisiologia Humana**. Porto Alegre: Artmed, 2001

DI STASI, L.C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Um guia de estudo Interdisciplinar. São Paulo? SP: 1996. Pp. 9-86.

DOUGLAS, Roberto Carlos. **Tratado de fisiologia aplicada às Ciências Médicas**. 6ª ed. Rio E Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

DE YOUNG, L. M.; KHEIFETS, J. B.; BALLARON, S. J.; YOUNG, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents Actions**, v. 26, p. 335-34, 1989.

DEVIENCE, K.F; RADDI, K.S.G; POZETTI,G.L. Das plantas medicinais aos fitofármacos. **Rev. Bras.Pl. Med**. Botucatu. v.6, n.3, p11-14, 2004.

DOURADO, E. R; DOCA, K. Na. P; ARAUJO, T. C. C. Comercialização de plantas medicinais por “raizeiros” na cidade de Anápolis-Go. **Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento**. v.2, n2, p. 67-69, 2005.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista Multiciência**, n. 7, 2006.

DUBUISSON D, DENNIS SG. Formalin test - quantitative study of analgesic effects of morphine, meperidine, and brain-stem stimulation in rats and cats. *Pain* 4: 161-174. 1977.

EDRIS, A.E. Pharmaceutical and therapic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Reserch*, v.21, p.308-323, 2007.

ELDIN, S; DUNFORD. A. **Fitoterapia na atenção primária à saúde**. São Paulo: Manole 146 p, 2001.

ELVIN-LEWIS M. Should we be concerned about herbal remedies. **J Ethnopharmacol** 75:141-164. 2001.

FIGUEIREDO, AC et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v.23, n.4, p. 213-26, 2008

FIRMO, W.C.A et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Caderno de pesquisa**. São Luis, Dez. 2015. p. 90-95.

FORTES, J. C ; GUEDES, M. I. F. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de croton argyrophylloides muell arg e de frações isoladas dos extratos de Astronium Urundeuva (Allemao) Engl. **Anais Da 58ª Reunião Anual Da Sbpcc**, Jul. 2006.

FRASSON, A. P; SANTOS, O; DUARTE, M; SILVA, T; GIORDANI, R. B; SILVA, A. G; SILVA, M.V; TASCIA, T; MACEDO, A. J. First report of anti-trichomonas vaginalis activity of

the medicinal plant polygala decumbens from the Brazilian semi-arid region, caatinga. **Parasitol Res.** n.110, p. 2581–2587, 2012.

FURONES, M. J.A. Anti-inflammatory activity of schinus terebinthifolius (copal) in rats. **Rev Cub Farm;** 27:139-44, 1993.

GALINDO, LA, PULTRINI, AM, COSTA, M. Biological effects of Ocimum gratissimum L. are due to synergic action among multiple compounds present in essential oil. **Journal of Natural Medicines**, v.64, n.4, p. 436-41, 2010.b

GANONG, William F. **Fisiologia Médica.** 17ª Ed. Rio de Janeiro: Prentice-Hall Do Brasil, 1998.

GHELARDINI, C. *et al.* **Local anaesthetic activity of β -caryophyllene. il farmaco** [S.L.], v. 56, n. 5-7, p.387-389, Jul. 2001. Elsevier bv. doi: 10.1016/S0014-827x(01)01092-8.

Disponível Em:

<Http://Api.Elsevier.Com/Content/Article/Pii:S0014827x01010928?Httpaccept=Text/XML>.

Acesso Em: 14 Dez. 2015.

GROVER *et al.* Traditional indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. **J Ethnopharmacol**, 233 - 238, 2001.

GUGINSKI, G; LUIZ, A. P; SILVA, M. D; MASSARO, M.; MARTINS, D. F; CHAVES, J; MATTOS, R. W; SILVEIRA, D; FERREIRA, V. M. M; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R.S. Mechanisms Involved In the antinociception caused by ethanolic extract obtained from the leaves of melissa officinalis lemon balm in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 93, p. 10–16, 2009.

GUIMARÃES, ADRIANA G. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil of eugenia candolleana dc., myrtaceae, on mice. **Rev. Bras. Farmacogn.**, [S.L.], v. 19, n. 4, p.883-887, 2009. Elsevier bv. doi: 10.1590/S0102-

695x2009000600016.

GURGEL, R.Q.; CARDOSO, G.S.; SILVA, A.M. *et al.* Creche: ambiente expositor ou protetor nas infestações parasitárias intestinais em Aracajú, SE. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 38(3): 267 – 269, 2005.

GURIB-FAKIM, A. **Medicinal plants: traditions of yesterday. molecular aspect of medicine**, n. 27, p.1-93, 2006.

GUYTON, ARTUR C.; HALL, JOHN E. **Tratado de fisiologia médica.** 11ª ed. Rio De Janeiro: Elsevier Ltda, 2006.

HALL CS. Emotional behavior in the rat: i. defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **J Comp Psychol.** 1934; 18:385-403.

HUNSKAAR S. & HOLE K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain** 30(1):

JANCSO, G., G. SAVAY, AND E. KIRALY. Appearance of histochemically detectable ionic calcium in degenerating primary sensory neurons. **Acta Histochem.** (Jena) 62: 165-169. 1978.

JONES, P.G.; DUNLOP, J. Targeting the cholinergic system as a therapeutic strategy for the treatment of pain. **Neuropharmacology**. 53: 197-206, 2007.

JUNGES, M. J. **Triterpenos de Eugenia Florida dc de potencial anti-hiv. caderno de farmácia**. v. 13, n.2, p. 103-104. 1997.

KATO, E.T.M. & AKISUE, G. Estudo farmacognóstico de cascas *myracrodruon urundeuva* fr. all. **Revista Lecta**, v.20, n. 1, p.69-76, Jan/Jun. 2006.

KLAUKE AL, RACZ I, PRADIER B, MARKERT A, ZIMMER AM, GERTSCH J, et al.: The cannabinoid CB2 receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. **European Neuropsychopharmacology**, 24(4):608–620. 2014.

KLAUMANN, P. R. Patologia da dor. **Archives of veterinary science**. Universidade Federal Do Paraná, 2008 .

KIM, H., MITTAL, D. P., IADAROLA, I. J., & DIONNE, R. A. Genetic predictors for acute experimental cold and heat pain sensitivity in humans. **Journal of Medical Genetics**, 43(8), E40. 2006.

KNIGHTON, D. R.; SILVER, I.; HUNT, T. K. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v.90, p. 262- 270, 1981.

KOSTER, R; ANDERSON, M; DE BEER J. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc**, v.18, p. 412- 417, 1959.

KUSKOSKI, E.M. et al. Characterization of anthocyanins from the fruits of baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg). **J Agric Food Chem**, v.51, p.5450-5454, 2003.

LEÃO, R.B.A.; FERREIRA, M.R.C.; JARDIM, M.A.G. Levantamento de plantas de uso terapêutico no município de santa bárbara do pará, estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 88, n. 1, p. 21-25, 2007.

LÉVÊQUE, C. **A Biodiversidade**. Bauru: Ed. da Universidade Sagrado Coração, 1999.

LI, X. *et al.* Antiproliferative effect of β -elemene in chemoresistant ovarian carcinoma cells is mediated through arrest of the cell cycle at the g2-m phase. **Cmls, Cell. Mol. Life Sci.**, [S.L.], v. 62, n. 7-8, p.894-904, Abr. 2005.

LOBO, A.M; LOURENÇO, A.M. (Eds). 2007. **Biossíntese de produtos naturais**. Lisboa: Ist Press,272.2012.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. DE A. Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas. **Nova Odessa**: Instituto Plantarum. 2002. 512 p.

MAGINA, M.A.; GILIOLI, A.; MORESCO, H.H.; COLLA, G.; PIZZOLATTI, M.; BRIGHENTE, I.M.C. 2010. Atividade antioxidante de três espécies de *Eugenia* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v.29, p.376-82.

MARTINEZ M.J, BETANCOURT J, ALONSO-GONZALEZ N, JAUREGUI A. Screening Of Some Cuban Medicinal Plants For Antimicrobial Activity. **J Ethnopharmacol**; 52:171-4. 1996

MAZINE, F. F.; SOUZA, V. C. A new species of eugenia (myrtaceae) from North-Eastern Brazil. 2008 The Linnean Society Of London, **Botanical Journal Of The Linnean Societ.** v. 158, p.775–777, 2008.

MENEZES A.M.S, RAO V.S. Effect of astronium urundeuva on gastrintestinal transit in mice. **Braz J Med Biol Res.** 21: 531-3. 1988

MILLAN JJ. The induction of pain: An integrative review. **Prog Neurobiol**, 57:1–164. 1999.

MONTANNARI, R. M. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de anarcandiaceae, sipurunaceae e verbeneaceae**, 2010. 174 F. Tese (Doutorado) - Curso de programa de pós graduação em Agroquímica, Universidade Federal De Viçosa, Viçosa, 2010.

MONTEIRO, J.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; Neto, E.M.F. L.; ARAÚJO, E.L.; ALBUQUERQUE M.M. & AMORIM E.L.C. The effects of seasonal climate changes in the caatinga on tannin levels in myracrodruon urundeuva (engl.) fr. all. and anadenanthera colubrina (vell.) Brenan. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n. 3, p.338-344, Jul/Set. 2006.

MORAES, M.E.A.; SANTANA, G.S.M. **Aroeira do sertão**: um candidato promissor para o tratamento de úlceras gástricas. **Funcap**, v. 3, p. 5-6, 2001

MORAES, F. R. Acute aerocystitis in *Piaractus mesopotamicus*: Participation of eicosanoids and pro-inflammatory cytokines. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34 , p.1057 - 1062, 2013.

MOREIRA, R.C.T ; COSTA, L. C. B; COSTA, R. C. S; ROCHA, E. A. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm.** Bonaerense. v.21, n.3, p. 205-11, 2002.

MOTA, C.W.C. **Efeito da chalconas (*myracrodruon urundeuva* fr. all.) nas fraturas expostas induzidas em ratos**. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em cirurgia, Universidade Federal Do Ceará. 2006.

NAMSA, N. D.; TAG, H.; MANDAL, M.; KALITA, P.; DAS, A. K. An ethnobotanical study of tradicional anti-inflammatory plants used by the lohit community of arunchal pradesh, India. **J. Ethnopharmacology** 125, p. 234-245, 2009.

NEWMAN DJ, CRAGG, GM. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *J Nat Prod* 70: 461-477, 2007.

MURI, E. M. F.; SPOSITO, M. M. M.; METSAVAHT, L. Antiinflamatorios nao-esteroidais e sua farmacologia local. **Acta fisiátrica**, v.16, n.4, p.186-190. 2009.

NOBRE, C. et al. "The Record Drought and Water Crises of Summer 2014 in Southeastern Brazil", in Bulletin of the American Meteorological Society 2015.

NOGUEIRA, L.M Et Al. Antinociceptive effect of the essential oil obtained from the leaves of *croton cordiifolius* baill. (euphorbiaceae) in mice. evidence-based complementary and alternative medicine, [S.L.], V. 2015, P.1-7, 2015. **Hindawi Publishing Corporation**. Doi: 10.1155/2015/620865. Disponível Em: <Http://Downloads.Hindawi.Com/Journals/Ecam/2015/620865.Pdf>. Acesso Em: 09 Dez. 2015.

OECD/OCDE 425, **Guideline for testing of chemicals acute oral toxicity – up-and-down procedure**, 2001. Disponível em: <<http://www.epa.gov/oppfead1/harmonization/>>

OLIVEIRA, C.J.; ARAÚJO, T.L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, v. 9, n. 1, p. 93- 105, 2007.

OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. Coli O157:H7, Salmonella typhimurium, staphylococcus aureus and listeria monocytogenes. **Food Control**, v.18, p.414-420. 2007.

PAIVA, Eduardo Dos Santos. Manejo da dor. **Rev Bras Reumatol da Universidade Federal do Paraná**, 2008.

PATEL, RR.; FILER, A.; BARONE, F.; BUCKLEY, C. D. Stroma: Fertile soil for inflammation. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**. v. 28, p. 565-576. 2014.

PFAFFL, M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time Rt-Pcr. **Nucleic Acids Res.**, v. 29, n.9, E45. 2001.

RANG, H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Rang & Dale Farmacologia. 7ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 318-333 p.

RAMOS M F S *et al.* Avaliação da atividade antiinflamatória dos óleos essenciais essenciais de cinco espécies de Myrtaceae. **Revista Fitos**, Rio De Janeiro, v. 2, n. 2, p.58-66, Set. 2006.

RATES, S.M.K. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. **Rev. Bras. Farmacogn.** Maringá, v. 11, n. 2, 2001.

RAVI K, RAMACHANDRAN B, Subramanian s. effect of eugenia jambolana seed kernel on antioxidante defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. **Life Sci**, 2717-2731, 2004.

RIBEIRO, R. A., VALE, M. L., THOMAZZI S. M., PASCHOALATO A. B.; POOLE S.; FERREIRA S. H.; CUNHA E F. Q.. Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice. **Eur J Pharmacol**, v.387, n.1, Jan 3, p.111-8. 2000.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.53-60. 2007

RUDOLPH, R.; BALLANTYNE JR., D. L.; SKIN GRAFTS. In: MCCARTHY, J. G.; MAY JR., J. W.; LITTLER, J. W. **Plastic Surgery**. v. 1, p. 221-267. Philadelphia: Wb Saunders, 1990

ROSENBLAT, J. D.; CHA, D. S.; MANSUR, R. B.; MCINTYRE, R. S. Inflamedmoods: A reviewof the interactions between inflammation and mood disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v.53, p. 23–34. 2014.

RUBIN, EMANUEL; GORSTEIN, FRED; RUBIN, RAPHAEL; SCHWARTING, ROLAND; STRAYER, DAVID. **Patologia; Bases Clinicopatológicas da Medicina**. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 45-84p. 2006.

SAEED, M. N.; LEL-DEMERDASH, E.; ABDEL-RAHMAN, H. M.; ALGANDABY, M. M.; AL-ABBASI, F. A. ; ABDEL-NAIM, A. B.; Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different experimental rat models. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 264, p.84–93. 2012.

SAKURADA, T.; MATSUMURA, T.; MORIYAMA T.; SAKURADA, C., S.; SAKURADA Ueno E S.. Differential effects of intraplantar capsazepine and ruthenium red on capsaicin-induced desensitization in mice. **Pharmacol Biochem Behav**, v.75, n.1, Apr, p.115-21, 2003.

SANTANGELO, C.; VARI, R.; SCAZZOCCHIO, B.; DI BENEDETTO, R.; FILESI, C.; MASELLA, R. Polyphenols, intracellular signaling and inflammation; **Annali Istituto Superiore Sanità**, v. 43, n. 4, p. 394-405. 2007.

SANTOS, A. R.; GADOTTI, V. M.; OLIVEIRA G. L.; TIBOLA D., PASZCUK A. F.; A. Neto, SPINDOLA, H. M.; SOUZA, M. M.; RODRIGUES, A. L. & CALIXTO J. B. Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice. **Neuropharmacology**, v.48, n7, Jun, p.1021-34, 2005.

SANTOS, A. R; TRENTIN, A. P; FERREIRA, J.; YUNES, R. A; CALIXTO, J. B Mechanisms involved in the antinociception caused by compound mv8612 isolated from mandevilla velutina in mice. **Brain Reseach**, v. 961, n.2, p. 269-76, 2003.

SANTOS L.C; AMORIM M.M.R. Uso da aroeira (*Schinus terebinthifolius raddi*) para tratamento de infecções vaginais. **Femina**; 30:339-42, 2002

SATO, M.; SAWAMURA, D.; INA, S.; YAGUCHI, T.; HANADA, K.; HASHIMOTO, I. In Vivo introduction of the interleukin 6 gene into human keratinocyte: induction of epidermal proliferation by the fully spliced form of interleukin 6, but, not by the alternatively spliced form. **Arch. Dermatol. Res.**, v. 291, p. 400-404, 1999.

SILVA, A. O.; ALVES, A. D.; ALMEIDA, D. A. T.; BALOGUN, O. S.; OLIVEIRA, R. G.; AGUIAR, A. A.; SOARES, I. M.; MARSON-ASCÊNCIO, P. G. ; ASCÊNCIO, S. D.; MARTINS, D. T. O. Evaluation of anti-inflammatory and mechanism of action of extract of *Macrosiphonia ongiflora* (Desf.) Müll.Arg. **Journal of Ethnopharmacology**, v.154, p.319–329. 2014.

SILVA, F et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. **Journal of Medical Microbiology**, ago. 2011, disponível em: . Acesso em 17 nov. 2011.

SILVA, F et al. Chemical composition and larvicidal activity of the essential oil from leaves of *Eugenia Brejoensis* Mazine (*Myrtaceae*). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [S.L.], v. 18, n.6, p.1441-1447, 2 Nov. 2015.

SZALLASI, A. & P. M. Blumberg. Mechanisms and therapeutic potential of vanilloids (capsaicin-like molecules). **Adv Pharmacol**, v. 24, p.123-55. 1993.

TEIXEIRA, M.J. A lesão do trato de Lissauer e do corno posterior da substância cinzenta da medula espinal e a estimulação elétrica do sistema nervoso central para o tratamento da dor

por desafferentação. São Paulo, 1990. Tese (Doutorado), São Paulo Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 256 p

TJOLSEN A, BERGE O, HUNSKAAR S, ROSLAND JH, HOLE K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain** 51: 5-17, 1992.

TOMINAGA, M.; CATERINA, M. J.; MALMBERG, A. B.; ROSEN T. A.; GILBERT H.; SKINNER K.; RAUMANN, B. E.; BASBAUM A. I. & Julius D. The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli. **Neuron**, v.21, n.3, Sep, P.531-43, 1998.

TRENGOVE, N.J.; BIELEFELDT-OHMSNN, H.; STACEY, M.C. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. **Wound Repair Regen**. v. 8, p. 13-25, 2000.

TROMBETTA, D. et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.49, n.6, p.2474-2478, jun. 2005.

VALE F. P.; BERNARDES, J. D. Levantamento Etnobotânico das Plantas Medicinais utilizadas pela população de Iporá, 2006.

VASCONCELOS, J. N. C. Indução, caracterização bioquímica e ultra-estrutural de calos de aroeira-do-sertão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 14, p.592-597, 17 Ago. 2012.

VIANA, V.M. Biologia e manejo de fragmentos florestais. In: **Congresso Florestal Brasileiro**, 6, Campos do Jordão, 1990. Anais. Curitiba: sociedade brasileira de Silvicultura/Sociedade de Engenheiros Florestais. p. 113-118. 1990

WAGNER CI; MASCELLI M. A; NEBLOCK Ds; WEISMAN Hf; COLLER Bs; JORDAN. Re. analysis of gp iib/iii receptor number by quantification of 7e3 binding to human platelets. **Blood**, v. 88, p.907-914, 1996.

WANG, G. *et al.* Antitumor effect of β -elemene in non-small-cell lung cancer cells is mediated via induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death. *mls, cell. mol. Life Sci.*, [S.L.], v. 62, n. 7-8, p.881-893, Abr. 2005. Springer Science + Business Media. Doi: 10.1007/S00018-005-5017-3. Disponível Em: <Http://Link.Springer.Com/Article/10.1007/S00018-005-5017-3>. Acesso Em: 11 Jan. 2016.

ZOU, SHIBO *et al.* B-elemene induces apoptosis of human rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes via reactive oxygen species-dependent activation of p38 mitogen-activated protein kinase. **Pharmacological Reports**, [S.L.], v. 68, n. 1, p.7-11, Fev. 2016. Elsevier Bv. Doi: 10.1016/J.Pharep.2015.06.004. Disponível Em: <Http://Api.Elsevier.Com/Content/Article/Pii:S1734114015001188?Httpaccept=Text/XML>. Acesso Em: 11 Jan. 2016.