



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE *Croton rhamnifolioides* PAX. & K. HOFFM E DO COMPLEXO DE
INCLUSÃO (OEFC / β -CD) EM MODELOS ANIMAIS**

Recife
2018

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE *Croton rhamnifolioides* PAX. & K. HOFFM E DO COMPLEXO DE
INCLUSÃO (OEFC / β -CD) EM MODELOS ANIMAIS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Pernambuco para a obtenção final do Título de
Doutor (a) em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Almir Gonçalves
Wanderley

Co-orientador: Prof. Dr. Irwin Rose Alencar
de Menezes

Recife

2018

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4 1010

M386e Martins, Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra.
Efeitos anti-inflamatório e antinociceptivo do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm e do complexo de inclusão (OEFC / β -CD) em modelos animais / Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins. – 2018.
142 f: il.; tab.; 30 cm.

Orientador: Almir Gonçalves Wanderley.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Croton. 2. Inflamação. 3. Nocicepção. 4. *Croton rhamnifolioides*. I. Wanderley, Almir Gonçalves (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2018-140)

ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS

**EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO ÓLEO ESSENCIAL
DAS FOLHAS DE *Croton rhamnifolioides* PAX. & K. HOFFM E DO COMPLEXO DE
INCLUSÃO (OEFC / β -CD) EM MODELOS ANIMAIS**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas do Centro de
Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Pernambuco para a obtenção final do Título de
Doutor (a) em Ciências Farmacêuticas.

APROVADA EM: 27 / 02 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley (Orientador / Membro interno)

Prof. Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes (Co-orientador / Membro externo)

Prof^a. Dr^a. Vanda Lúcia dos Santos (Membro externo)

Prof^a. Dr^a. Maria Bernadete Sousa Maia (Membro interno)

Prof^a. Dr^a. Teresinha Gonçalves da Silva (Membro interno)

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Membro interno)

Dedico este trabalho aos meus pais, à minha irmã, ao meu esposo e aos meus avós (in memoriam) que sempre me deram amor e incentivo, permitindo, assim, a concretização de mais uma etapa importante em minha vida.

AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos deste trabalho são mais que especiais, pois refletem em GRATIDÃO a todos que contribuíram diretamente e indiretamente para a concretização deste sonho tão desafiador e, ao mesmo tempo, inspirador. Durante o doutorado, aprendi a fazer de um punhado de areia um castelo lindo e maravilhoso...

Agradeço primeiramente a Deus, que foi e sempre será meu alimento diário, se faz presente em todos os momentos da minha vida, me guiando, protegendo e fortalecendo para vencer. A minha fé mostrou que Deus só presenteia as batalhas mais “desafiadoras” aos seus “melhores” soldados e que os sonhos de Deus são maiores que os meus. À Ele, toda a minha honra e glória.

Aos meus pais, Américo José Brito Pereira e Maria Cicleide de Oliveira, pelo amor, dedicação e compreensão em todos os momentos na minha vida. Vocês são minha base impulsionadora, que fez com que eu chegasse até aqui, mostrando os valores de família, honestidade, justiça, educação e amor. À minha irmã, Germana Oliveira Brito Pereira, pela amizade, carinho e serenidade.

Ao meu amor, André Luiz Bezerra Martins, especialmente pela dedicação, carinho e paciência, por ser meu amigo e compartilhar tantas das emoções do meu dia-a-dia. Você é meu exemplo de otimismo, sabedoria e alegria.

À minha família, pelo carinho e apoio em todos os momentos, sou muito grata por ter vocês ao meu lado. Em especial, demonstro minha eterna gratidão, aos meus avós paternos e maternos (*in memoriam*), que me inspiraram a vencer e não desistir, pois uma voz maior soava baixinho no meu ouvido: “Calma, minha filha, vai dar tudo certo!”. Como é grande o meu amor por vocês... Ao meu tio Fred (*in memoriam*), agradeço pelo carinho, respeito e paciência no início deste árduo estudo, ao participar da minha coleta.

À “família de Recife”, pois não ganhei amigos, e sim irmãos: Temístocles (Có), Cynthia, Samara e Simone, vocês são luz! Saibam que nunca vou esquecer do que fizeram por mim e das experiências incríveis que vivemos. A vocês, toda a minha gratidão.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley, pelo qual tenho extrema admiração, respeito e gratidão pela orientação, apoio e ensinamentos transmitidos, que foram extremamente importantes para a conclusão deste trabalho! Gratidão!

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Irwin Rose Alencar Menezes, pela paciência, amizade, atenção, respeito e ensinamentos, imprescindíveis para meu desenvolvimento pessoal e profissional. Minha eterna gratidão!

A todos os professores e coordenadores do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela disponibilidade e atenção com os alunos.

À minha banca de defesa e qualificação pelas valiosas considerações;

Às minhas amigas-irmãs que o mestrado me presenteou, Jacqueline e Ana Luiza, pela amizade, paciência, carinho e respeito;

Especialmente, à minha “Família LFQM”: Isabel, Rayane, Fyama, Sanadia, Thaís, Neyze, Gabi, Datiane, Roger, Bruno, Vitor, Andressa (LFCE) e meus amigos: Lindaianne e Rafael. Este trabalho é NOSSO! Amo vocês!

Aos presentes que Deus me enviou, inesquecíveis na minha vida: Isabel, Rayane, Sanadia e Fyama! Minha eterna gratidão, admiração, amor e respeito à vocês que estiveram comigo do começo ao fim.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas e aos meus amigos de graduação pelos momentos agradáveis durante a conclusão do curso.

Ao *coach* Dr. Paulo Vieira e as *Coaches*, Shirley Caminha e Roberta Gomes, minha eterna gratidão e admiração!

Ao Laboratório de Botânica e Herbário Caririense Dárdano de Andrade e Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA) pela identificação da espécie, atenção e respeito coordenado pela Prof.^a Dr.^a Maria Arlene. Ao Laboratório de Microbiologia e Bioquímica Molecular, coordenado pelo Prof. Dr. Henrique e Prof.^a Dr.^a Flaviana e o Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais, coordenado pelo Prof. Dr. José Galberto, pela disponibilidade e pelo auxílio de ambos nos experimentos químicos. Ao Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, em especial à Prof.^a Dr.^a Marta e Prof.^a Dr.^a Roseli por todo carinho, atenção e colaboração.

À Universidade Federal de Sergipe (UFS), em especial ao Prof. Dr. Adriano Antunes, Prof. Dr. Lucindo Quintans, Prof.^a Dr.^a Jullyana Quintans e à doutoranda Paula Passos pelas valiosas colaborações ao longo deste trabalho.

Agradeço o apoio dos profissionais e colegas das instituições citadas, por terem colaborado de forma direta ou indireta na realização deste estudo.

A todos da secretaria do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela atenção, dedicação, carinho, respeito e disponibilidade com os alunos.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES), Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

“Não existe árvore boa que dê frutos ruins, nem árvore ruim que dê frutos bons. Cada árvore se reconhece pelo seu fruto. Não se colhem figos de espinheiros e nem uvas de urtigas.” Lucas (6,43-44)

RESUMO

A espécie *Croton rhamnifolioides* é conhecida na etnomedicina como “quebra-faca” e é utilizada no tratamento de dor de estômago, vômitos e febre. Este estudo tem por objetivo avaliar o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo do óleo essencial das folhas de *C. rhamnifolioides* (OEFC), complexo de inclusão do OEFC com β -ciclodextrina (COEFC) e do constituinte majoritário (1,8-cineol). O óleo essencial foi extraído a partir das folhas frescas por meio da técnica de hidrodestilação e os complexos foram preparados pelos métodos de mistura física (MF), malaxagem (MA) e co-evaporação (CE). A análise química foi determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC/MS). A caracterização físico-química do OEFC e seus complexos (MF, MA e CE) ocorreu por meio das técnicas de calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria/termogravimetria derivada, microscopia eletrônica de varredura e Karl Fischer. A toxicidade aguda não clínica do OEFC e COEFC foi determinada pela administração da dose única (2000 mg/kg/v.o.). O efeito anti-inflamatório agudo do OEFC, COEFC e 1,8-cineol foi determinado através dos modelos de edema de orelha pela aplicação tópica única de óleo de cróton; edema de pata induzido por carragenina, dextrana, histamina e ácido araquidônico; permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans*; e subcrônico através da lesão granulomatosa induzida por *pellets* de algodão. O efeito do OEFC e COEFC sobre sistema nervoso central (SNC) foi determinado pelos ensaios de campo aberto e *rota-rod*. O efeito antinociceptivo do OEFC e COEFC foi avaliado pelos modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético, formalina e placa quente e somente a dose efetiva foi selecionada para avaliação dos possíveis mecanismos de ação envolvidos (opioide, colinérgico, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgico, serotoninérgico, óxido nítrico, adenosinérgico, dopaminérgico, glutamatérgico e vanilóide). O GC/MS identificou e quantificou 11 constituintes, sendo o majoritário o 1,8-cineol (41,33%). O método de co-evaporação apresentou melhor índice de complexação. O OEFC e o COEFC apresentaram baixa toxicidade oral aguda. A aplicação tópica do OEFC (20 mg/mL) e 1,8-cineol (8,26 mg/mL) reduziram significativamente o edema induzido por óleo de cróton. Todas as doses testadas do OEFC, 1,8-cineol e COEFC demonstraram efeito anti-inflamatório significativo no edema de pata induzido por carragenina, dextrana e a permeabilidade vascular. O OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) demonstraram atividade antiedematogênica nos edemas induzidos por histamina e ácido araquidônico, também sendo eficaz no modelo de inflamação subcrônica de lesão granulomatosa. O OEFC (200 mg/kg/v.o.) e o COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) não apresentaram

alterações sobre o SNC nos modelos de campo aberto e no *rota-rod*. Todas as doses do OEFC e COEFC demonstraram efeito antinociceptivo nos ensaios de contorções abdominais, formalina e placa quente. As doses do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) mostraram que o efeito antinociceptivo envolve a participação na ativação dos sistemas opioide, colinérgico, vanilóide, da via L-Arginina/NO e do receptor α -2 adrenérgico. Os resultados obtidos demonstraram que o OEFC e o COEFC apresentam potencial anti-inflamatório e antinociceptivo e que estas ações, em parte, podem estar relacionadas ao 1,8-cineol, composto majoritário do OEFC.

Palavras-chave: *Croton*. Inflamação. Nocicepção. *Croton rhamnifolioides*.

ABSTRACT

The species *Croton rhamnifolioides* is known in ethnomedicine as a "knife-breaker" and is used in the treatment of stomach pain, vomiting and fever. This study aims to evaluate the anti-inflammatory and antinociceptive effect of *C. rhamnifolioides* leaves essential oil (OEFC), inclusion complex of OEFC with β -cyclodextrin (COEFC) and of the major constituent (1,8-cineole). The essential oil was extracted from the fresh leaves by means of the hydrodistillation technique and the complexes were prepared by the methods of physical mixing (PM), malaxation (MA) and co-evaporation (CE). The chemical analysis was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The physico-chemical characterization of the OEFC and its complexes (PM, MA and CE) occurred through differential scanning calorimetry, thermogravimetry / thermogravimetry techniques, scanning electron microscopy and Karl Fischer. Acute non-clinical toxicity of OEFC and COEFC was determined by the administration of the single dose (2000 mg/kg/v.o.). The acute anti-inflammatory effect of OEFC, COEFC and 1,8-cineol was determined through ear edema models by the single topical application of croton oil; paw edema induced by carrageenan, dextran, histamine and arachidonic acid; vascular permeability by *Evans* blue extravasation; and subchronic by granulomatous lesion induced by cotton *pellets*. The effect of the OEFC and the COEFC on central nervous system (CNS) was determined by the open-field assays and *rota-rod*. The antinociceptive effect of OEFC and COEFC was evaluated by the abdominal contortion models induced by acetic acid, formalin and hot plate, and only the effective dose was selected to evaluate the possible mechanisms of action involved (opioid, cholinergic, $\alpha 1$ and $\alpha 2$ adrenergic, serotonergic, nitric oxide, adenosinergic, dopaminergic, glutamatergic and vanilloid). The GC / MS identified and quantified 11 constituents, the majority being 1,8-cineole (41.33%). The co-evaporation method showed a better index of complexation. The OEFC and the COEFC showed low acute oral toxicity. Topical application of OEFC (20 mg / mL) and 1,8-cineole (8.26 mg / mL) significantly reduced the edema induced by croton oil. All tested doses of OEFC, 1,8-cineole and COEFC demonstrated a significant anti-inflammatory effect on carrageenan-induced paw edema, dextran, and vascular permeability. The OEFC (8 mg / kg / v.o.), 1,8-cineole (10.3 mg / kg / v.o.) and COEFC (8,35 mg / kg / v.o.) showed anti-edematogenic activity in the edemas induced by histamine and arachidonic acid, also being effective in the model of sub chronic inflammation of granulomatous lesion. The OEFC (200 mg / kg / v.o.) and COEFC (83,5 mg / kg / v.o.) showed no changes on the CNS in the open field models and in the *rota-rod*. All doses of OEFC and COEFC demonstrated

antinociceptive effect in the tests of abdominal contortions, formalin and hot plate. The doses of OEFC (25 mg / kg / v.o.) and COEFC (8,35 mg / kg / v.o.) showed that the antinociceptive effect involves the participation in the opioid, cholinergic, vanilloid, L-Arginine / NO and receptor α -2 adrenergic receptor. The results obtained demonstrated that the OEFC and the COEFC have anti-inflammatory and antinociceptive potential and that these actions, in part, may be related to 1,8-cineol, the major compound of OEFC.

Keywords: Croton. Inflammation. Nociception. *Croton rhamnifolioides*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Espécie de <i>Croton rhamnifolioides</i> Pax. & K. Hoffm coletada no município de Aiuaba - CE. (A) Folhas e frutos (B) Flores e folhas	27
Figura 2 -	Estruturas moleculares das ciclodextrinas (α , β e γ)	29
Figura 3 -	Representação esquemática das principais alterações vasculares e celulares no processo inflamatório	32
Figura 4 -	Representação esquemática dos mecanismos básicos da dor, envolvendo a lesão do tecido, liberação de mediadores químicos e transdução do estímulo	36
Figura 5 -	Fluxograma experimental	41
Figura 6 -	Extração do óleo essencial das folhas de <i>Croton rhamnifolioides</i> por meio do sistema de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger	42
Figura 7 -	Espectro dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas de <i>Croton rhamnifolioides</i> (Sistema CG-MS)	54
Figura 8 -	Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC (A) e Termogravimetria - TG (B) da Mistura Física (MF), Malaxagem (MA) e Co-evaporação (CE) na atmosfera inerte de nitrogênio. Curvas dos complexos do óleo essencial de <i>Croton rhamnifolioides</i> (OEFC)	58
Figura 9 -	Microscopia eletrônica de varredura obtida em aceleração de voltagem de 12 kv.....	61
Figura 10 -	Efeito do OEFC (2,5; 5, 10 e 20 mg/mL) e do 1,8-cineol (1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL) aplicado topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos	63
Figura 11 -	Efeito do COEFC (0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL) aplicado topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos	64
Figura 12 -	Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos	66
Figura 13 -	Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos	67
Figura 14 -	Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos	68
Figura 15 -	Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos	71

Figura 16 -	Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos	72
Figura 17 -	Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos	73
Figura 18 -	Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de histamina a 1% em camundongos	75
Figura 19 -	Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de ácido araquidônico a 1% em camundongos	77
Figura 20 -	Ação do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de <i>Evans</i> (A/B) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (C/D)	80
Figura 21 -	Ação do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de <i>Evans</i> (A) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (B)	81
Figura 22 -	Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de <i>pellets</i> de algodão. (A) Massa (g) dos <i>pellets</i> ; e (B) Proteínas totais (g/dL)	83
Figura 23 -	Efeito do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de <i>pellets</i> de algodão. (A) Massa (g) dos <i>pellets</i> ; e (B) Proteínas totais (g/dL)	83
Figura 24 -	Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de cruzamentos (A) “ <i>gromming</i> ” (B) e “ <i>rearing</i> ” (C) no teste de campo aberto.....	85
Figura 25 -	Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de quedas no “ <i>Rota-rod</i> ”	87
Figura 26 -	Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético	88
Figura 27 -	Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o tempo de lambadura da pata no teste da formalina em camundongos. Primeira fase (A/C); segunda fase (B/D)	90

Figura 28 -	Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o tempo de latência na placa quente	92
Figura 29 -	Envolvimento do sistema opioide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	94
Figura 30 -	Envolvimento do sistema colinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	95
Figura 31 -	Envolvimento do receptor α -1 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	96
Figura 32 -	Envolvimento do receptor α -2 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	97
Figura 33 -	Envolvimento da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	98
Figura 34 -	Envolvimento do sistema vanilóide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por capsaicina em camundongos	99
Figura 35 -	Envolvimento das vias serotoninérgicas na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	100
Figura 36 -	Envolvimento do sistema dopaminérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	101
Figura 37 -	Envolvimento do sistema adenosinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos	102
Figura 38 -	Envolvimento do sistema glutamatérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por glutamato em camundongos	103

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Constituintes químicos do óleo essencial das folhas de <i>Croton rhamnifolioides</i>	55
Tabela 2 -	Porcentagens de perda de massa obtidas por Termogravimetria/ Termogravimetria derivada das amostras de OEFC, β -CD, MF, MA e CE	59
Tabela 3 -	Percentual de água obtido por titulação de Karl Fisher	60

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µL	microlitro
A§	fibra a-delta
AAA	triterpeno Ácido Acetil Aleuritólico
AINE's	anti-inflamatórios não esteroides
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (Análise de Variância)
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior
CE	co-evaporação
CEUA/URCA	Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Regional do Cariri
CG-MS	cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
CNPQ	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CO ₂	gás carbônico
COEFC	complexo de inclusão do óleo essencial de <i>Croton rhamnifolioides</i> com β-ciclodextrina
COX 1	ciclo-oxigenase-1
COX 2	ciclo-oxigenase-2
COX	ciclo-oxigenase
CTN	19-nor-cloredano trans-crotonina
Cu ²⁺	íons cobre
DL50	dose letal média aguda
DSC	calorimetria exploratória diferencial
DTG	termogravimetria derivada
E. P. M.	erro padrão da média
eV	elétron-volt
FACEPE	Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco
FLONA	Floresta Nacional do Araripe
FUNCAP	Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico
H ⁺	íons de hidrogênio
H1	receptor histamínico do tipo 1
IASP	Associação Internacional para Estudo da Dor (<i>International Association for the Study of Pain</i>)

ICMbio	Instituto Chico Mendes da Biodiversidade
IL	interleucina
IL-1	interleucina tipo 1
IL-8	interleucina tipo 8
iNOS	óxido nítrico sintase
ISO	Organização Internacional de Padronização
MA	malaxagem
MAP	proteína-quinases ativadas por mitógenos (<i>Mitogen Activated Protein Kinases</i>)
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MF	mistura física
NO	óxido nítrico
OEFC	óleo essencial das folhas de <i>Croton rhamnifolioides</i>
p/v	massa/volume
PAF	fator de ativação das plaquetas
PBS	tampão fosfato-salino (<i>Phosphate Buffered Saline</i>)
PGE2	prostaglandina do tipo 2
PGF2 α	prostaglandina 2 α
PGs	prostaglandinas
PI3K	fosfatidilinositol 3-quinase
PLA2	fosfolipase A2
PLC	fosfolipase C
rpm	rotação por minuto
SNC	sistema nervoso central
TNF α	fator de necrose tumoral alfa
TPA	ácido 13-acetato de 12-o-tetradecanoilforbol
TRPV1	receptor de capsaicina do tipo 1 (<i>transient receptor potential vanilloid</i>)
URCA	Universidade Regional do Cariri
v/v	volume/volume
Vf	volume final
Vi	volume inicial
vs	<i>versus</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 REFERENCIAL TEÓRICO	24
2.1 Plantas medicinais	24
2.2 Família Euphorbiaceae e Gênero <i>Croton</i>	25
2.2.1 <i>Croton rhamnifolioides</i> Pax. & K. Hoffm.....	26
2.3 Óleos essenciais	27
2.4 Ciclodextrinas	29
2.5 Inflamação	31
2.6 Nocicepção e dor	35
3 OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo geral	39
3.2 Objetivos específicos	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS	41
4.1 Material botânico	41
4.2 Extração do óleo essencial	42
4.3 Análise química do óleo essencial das folhas de <i>Croton rhamnifolioides</i> (OEFC)	42
4.4 Obtenção dos complexos de inclusão	43
4.5 Caracterização físico-química dos complexos de inclusão	43
4.6 Ensaio <i>in vivo</i>	44
4.6.1 <i>Animais e aspectos éticos da pesquisa</i>	44
4.7 Protocolos experimentais	44
4.7.1 <i>Toxicidade aguda não clínica</i>	45
4.7.2 <i>Efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC</i>	45
4.7.2.1 <i>Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton</i>	45
4.7.2.2 <i>Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina/dextrana 1%</i>	45
4.7.2.3 <i>Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de histamina a 1%</i>	46
4.7.2.4 <i>Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de ácido araquidônico a 1%</i>	46
4.7.2.5 <i>Mensuração do edema</i>	47
4.7.3 <i>Efeito anti-inflamatório do OEFC, 1,8-cineol e COEFC</i>	47
4.7.3.1 <i>Permeabilidade vascular por extravasamento de azul de Evans</i>	47
4.7.3.2 <i>Lesão granulomatosa induzida pela implantação de pellets de algodão</i>	47
4.7.4 <i>Efeito sobre sistema nervoso central do OEFC e COEFC</i>	48
4.7.4.1 <i>Campo aberto</i>	48
4.7.4.2 <i>“Rota-rod”</i>	48
4.7.5 <i>Efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC</i>	49

4.7.5.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético	49
4.7.5.2 Teste da formalina a 2,5%	49
4.7.5.3 Placa quente	49
4.7.6 Vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide).....	50
4.7.6.1 Participação do sistema opioide	50
4.7.6.2 Participação do sistema colinérgico	50
4.7.6.3 Participação do receptor α -1 adrenérgico	50
4.7.6.4 Participação do receptor α -2 adrenérgico	51
4.7.6.5 Participação da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc	51
4.7.6.6 Participação do sistema vanilóide.....	51
4.7.6.7 Participação das vias serotoninérgicas	52
4.7.6.8 Participação do sistema dopaminérgico	52
4.7.6.9 Participação do sistema adenosinérgico	52
4.7.6.10 Participação do sistema glutamatérgico	53
4.8 Expressão dos dados e análise estatística	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1 Análise química do OEFC	54
5.2 Caracterização físico-química dos complexos de inclusão do OEFC com β-ciclodextrina	56
5.3 Toxicidade aguda não clínica	62
5.4 Efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC	63
5.4.1 Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton.....	63
5.4.2 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina 1%	65
5.4.3 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana 1%.....	70
5.4.4 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de histamina a 1% e ácido araquidônico a 1%	74
5.4.5 Efeito anti-inflamatório do OEFC, 1,8-cineol e COEFC.....	79
5.4.5.1 Permeabilidade vascular por extravasamento de azul de Evans.....	79
5.4.5.2 Lesão granulomatosa induzida pela implantação de <i>pellets</i> de algodão	82
5.5 Efeito do OEFC e do COEFC sobre o Sistema Nervoso Central (SNC)	85
5.5.1 Campo aberto	85
5.5.2 “Rota-rod”	86
5.6 Efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC.....	88
5.6.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético	88
5.6.2 Teste da formalina a 2,5%.....	89
5.6.3 Placa quente	91

5.6.4 Vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e do COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide).....	94
6 CONCLUSÃO	105
REFERÊNCIAS	106
APÊNDICE A - PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2014-2018	130
APÊNDICE B - ARTIGO PUBLICADO / SUBMISSÃO DE ARTIGO CORRELACIONADO A TESE	138
ANEXO A - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADE COM FINALIDADE CIENTÍFICA - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE	140
ANEXO B - IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E NÚMERO DE HERBÁRIO DA ESPÉCIE DE <i>Croton rhamnifolioides</i> PAX. & K. HOFFM	141
ANEXO C - DECLARAÇÃO DO CEUA	142

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais vêm sendo cada vez mais utilizadas com finalidade terapêutica, surgindo a necessidade da comprovação científica envolvendo a etnobotânica, com o conhecimento popular, a química através do isolamento, purificação e determinação de princípios ativos, a farmacologia fazendo a relação uso medicinal/estruturas/atividade, corroborando para a formulação de novos fitoterápicos para o tratamento de diversas enfermidades (MACIEL; VEIGA-JUNIUR, 2002). Atualmente, a ciência e as políticas de saúde estão inserindo na população o uso das plantas medicinais (FEIJÓ *et al.*, 2012) para o tratamento de diversas enfermidades. O gênero *Croton* apresenta na literatura algumas atividades farmacológicas elucidadas: anti-inflamatória (BIGHETTI *et al.*, 1999), antinociceptiva (SANTOS *et al.*, 2005; NOGUEIRA *et al.*, 2015) e gastroprotetora (VIDAL *et al.*, 2017). A espécie *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm é conhecida na medicina popular como “quebra-faca” ou “caatinga-branca” e utilizada no tratamento de dor de estômago, mal-estar gástrico, vômitos, diarreia com sangue e para diminuir a febre (RANDAU, 2001).

O óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* apresenta constituição química variada de monoterpenos e sesquiterpenos, porém, tem maior representação do monoterpeno 1,8-cineol, considerado constituinte majoritário. Os óleos essenciais e complexos de inclusão a partir de espécies medicinais apresentam relevância na farmacologia, em virtude de uma constituição química complexa que possivelmente abrange diversas atividades farmacológicas e também pelas vantagens em relação à solubilidade, biodisponibilidade, estabilidade, efeitos farmacológicos e redução de doses e/ou efeitos colaterais, que possibilitam serem considerados como uma nova opção terapêutica nos tratamentos de diversas doenças, inclusive envolvendo processos inflamatórios e dolorosos.

A inflamação é uma reação de defesa do organismo que ocorre de forma específica nos tecidos vascularizados, desencadeada como resposta a estímulos lesivos. A reação inflamatória microscopicamente envolve uma série de fenômenos, dentre eles: dilatação de arteríolas, capilares e vênulas, com aumento de permeabilidade vascular e fluxo sanguíneo, exsudação de plasma, incluindo proteínas e migração de leucócitos para o foco inflamatório (CONTRAN *et al.*, 2010; PEREIRA; BOGLIOLO, 2004). Durante o processo inflamatório, notam-se alguns sinais clássicos como: calor, rubor, dor, edema, perda da função do órgão ou tecido lesado (KIM, DEUTSCHMAN, 2000; CHOI, CHA e JEON, 2012). Dentre eles, a dor é um sinal decorrente de estímulos nocivos, que tenta restabelecer a homeostase, ativando reações com a

finalidade de suprimir a etiologia da dor e, por fim, restaurar/limitar as lesões e/ou agravos (LENT, 2010). No entanto, a nocicepção é um processo sensorial estimulado (PATEL, 2010) por meio da sensibilização e ativação dos receptores da dor ou nociceptores (TEIXEIRA, 2009).

O presente estudo avaliou o efeito anti-inflamatório do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm (OEFC), assim como seu componente químico majoritário (1,8-cineol) e do complexo de inclusão do óleo essencial de *C. rhamnifolioides* com β -ciclodextrina (COEFC) em modelos experimentais de inflamação, como também avaliou o efeito antinociceptivo do OEFC e COEFC.

A atividade antiedematogênica do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC foi avaliada por via tópica (edema de orelha pela aplicação tópica única de óleo de cróton) e sistêmica induzida por diferentes agentes flogísticos (edema de pata induzido por carragenina, dextrana, histamina, ácido araquidônico) e o efeito anti-inflamatório do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC por meio do ensaio de permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* e lesão granulomatosa induzida por *pellets* de algodão.

A atividade do OEFC e do COEFC sobre o SNC foi avaliada por meio dos ensaios de campo aberto e *rota-rod*. O efeito antinociceptivo foi elucidado através dos modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste de formalina a 2,5% e placa quente; posteriormente, foram investigadas as vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e do COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide).

Os resultados neste estudo demonstraram que o OEFC e COEFC apresentam potencial anti-inflamatório e antinociceptivo e que estas ações, em parte, podem estar relacionadas ao 1,8-cineol, composto majoritário do OEFC, sendo importante ressaltar que o complexo do óleo essencial com doses menores apresentou resultados significativos tão quanto o OEFC em doses maiores.

A presença de substâncias bioativas e a comprovação do efeito farmacológico são de fundamental importância para o desenvolvimento de novas formulações terapêuticas. Mesmo diante da crescente disponibilidade de medicamentos no mercado terapêutico, é necessária a pesquisa por agentes que apresentem maior disponibilidade, menor toxicidade ou efeitos colaterais e uma relação custo-benefício, bem como melhoria na biodisponibilidade, estabilidade e solubilidade.

Diante do uso na medicina popular, da composição química e a comprovação de diversas atividades biológicas em relação à família Euphorbiaceae e gênero *Croton*, despertou-se o interesse em investigar e validar cientificamente o possível efeito anti-inflamatório e

antinociceptivo da espécie *Croton rhamnifolioides*, visando, assim, contribuir positivamente para o uso correto e seguro de recursos vegetais na terapêutica da inflamação e dor pela sociedade, uma vez que o uso de plantas medicinais é frequente para o tratamento de processos inflamatórios e dolorosos sem justificativa da presença de constituintes e/ou substâncias isoladas com princípios ativos e ausência da comprovação das atividades farmacológicas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais

As plantas medicinais são utilizadas no tratamento de diversas doenças há milhares de anos. As antigas civilizações já conheciam seu poder medicinal e as cultivavam, transmitindo os ensinamentos a cada geração (FEIJÓ *et al.*, 2012). No século XX, a fitoterapia enfrentou uma desvalorização em virtude da intensificação do uso dos medicamentos industrializados (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012). Entretanto, apesar da evolução da medicina alopática a partir da segunda metade do século XX, existem obstáculos básicos na sua utilização pelas populações com baixo poder aquisitivo, como, por exemplo, o acesso aos centros de atendimento hospitalares e a obtenção de exames e medicamentos. Estes motivos, quando associados à fácil obtenção e tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

O Brasil possui a maior reserva florestal diversificada do planeta, sendo muitas dessas espécies utilizadas para fins medicinais com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas. Seu uso não se limita apenas às zonas rurais ou regiões necessitadas de assistência médica e farmacêutica, mas são também utilizadas de forma intensa no meio urbano, como forma alternativa ou complementar aos medicamentos alopáticos (SANTOS; TORRES, 2012). Várias comunidades rurais do Nordeste estão inseridas em áreas de vegetação de caatinga, sustentadas através da agricultura, bem como de produtos não madeireiros, tais como ervas medicinais, óleos, sementes e frutos. Dentre estes citados, as plantas medicinais são consideradas como a única alternativa dessas comunidades para combater suas enfermidades (SILVA *et al.*, 2015).

Um estudo afirma que, desde 2006, após a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, ocorreram diversos avanços na implementação do uso de plantas medicinais, como: criação de diversas políticas locais entre estados e municípios, oferta desse tipo de tratamento por serviços de saúde, o uso da fitoterapia por parte dos profissionais de saúde, a inserção na pesquisa científica a fim de contribuir na segurança e eficácia do seu uso. No entanto, várias dificuldades impedem que essa prática se torne frequente nos serviços de saúde (FIGUEREDO; JUNIOR, 2014).

Outra pesquisa recente avaliou o conhecimento e percepção sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia pelos profissionais da estratégia de saúde da família em Petrolina - PE

e verificou que 36,5% dos profissionais se sentem preparados para prescrever fitoterápicos, além de existir a necessidade de sua capacitação e motivação a respeito da utilização correta e segura de plantas medicinais (NASCIMENTO JÚNIOR *et al.*, 2016). Em análise realizada em Itacaré, no estado da Bahia, mostrou-se que a origem do conhecimento das comunidades com relação à utilização de plantas medicinais está associada às pessoas mais idosas (58% dos casos), médicos ou livros. Neste estudo, a grande maioria dos entrevistados, cerca de 85%, afirmou o costume de transmitir seus conhecimentos sobre a medicina popular (PINTO; AMOROZO; FURLAN, 2006).

O potencial de espécies medicinais está associado à presença de princípios ativos que podem ser encontrados em diversas partes de uma planta e capazes de produzir diversos efeitos farmacológicos, como: analgésicos, diuréticos, expectorantes, antissépticos, calmantes, digestivos, cicatrizantes, antidiarreicos, entre outros (SANTOS; TORRES, 2012). No entanto, em estudo realizado por Feijó *et al.* (2012), foram identificados alguns problemas em relação ao uso das plantas, dentre eles: a forma de preparo inadequada, a procedência e o armazenamento impróprio. Estes fatores podem resultar no comprometimento da qualidade, propriedades funcionais e benefícios à saúde.

2.2 Família Euphorbiaceae e Gênero *Croton*

A família Euphorbiaceae possui cerca de 8.000 espécies descritas, distribuídas em 317 gêneros, agrupados em 49 tribos e 5 subfamílias, compreendidas entre: *Phyllanthoideae*, *Oldfieldioideae*, *Crotonoideae*, *Acalyphoideae* e *Euphorbioideae*, sendo os principais gêneros relacionados ao número de espécies, incluindo *Euphorbia* L. (1500), *Croton* L. (700), *Phyllanthus* L. (400) e *Acalypha* L. (400), de acordo com o sistema de classificação proposto (WEBSTER, 1994). Essa família encontra-se representada especialmente nos trópicos e em vários tipos de vegetações e habitats, sendo considerada ampla, complexa e com diversidade de angiospermas (SECCO *et al.*, 2012). No Brasil, ocorrem 64 gêneros e 940 espécies pertencentes a família Euphorbiaceae com expansão em todos os biomas, porém, principalmente em áreas savânicas, florestais secas ou campestres (CORDEIRO *et al.*, 2010; SODRÉ; SILVA, 2015). A família Euphorbiaceae é considerada típica do bioma da caatinga, em virtude da sua extensão pelo semiárido nordestino, sendo cerca de 78 espécies endêmicas deste bioma (BFG, 2015; ZAPPI, 2008).

Dentre os principais gêneros da família Euphorbiaceae S. L., o *Croton* L. é o mais pesquisado, tanto no Brasil, como no exterior (SECCO *et al.*, 2012), possuindo cerca de 1300

espécies que se encontram amplamente distribuídas em regiões tropicais do Novo e Velho Mundo; dentre elas, 350 ocorrem no Brasil. Várias espécies de plantas medicinais desse gênero são utilizadas na África, Ásia e América do Sul e, entre as principais terapias, estão inclusos: tratamento de câncer, diabetes, feridas externas, febre, hipercolesterolemia, hipertensão, inflamação, vermes intestinais, malária, dor, úlceras, obesidade, constipação intestinal, diarreia e outros problemas digestivos (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007; BFG 2015).

O gênero *Croton* apresenta uma ampla distribuição no Nordeste brasileiro, sendo comum encontrar seus representantes nos estados do Ceará, Pernambuco, Maranhão, Piauí, Rio Grande do Norte, Paraíba, Bahia, Alagoas e Sergipe (FORZZA *et al.*, 2010; VIDAL *et al.*, 2017). Em relação às atividades farmacológicas comprovadas, algumas se destacam no gênero *Croton*: anti-inflamatória (BIGHETTI *et al.*, 1999), antinociceptiva (BIGHETTI *et al.*, 1999; LOPES *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2005), gastroprotetora (VIDAL *et al.*, 2017), antioxidante (SIMIONATTO *et al.*, 2007), antibacteriana (COSTA *et al.*, 2013), larvicida (SANTOS *et al.*, 2017) e leishmanicida (LIMA *et al.*, 2015).

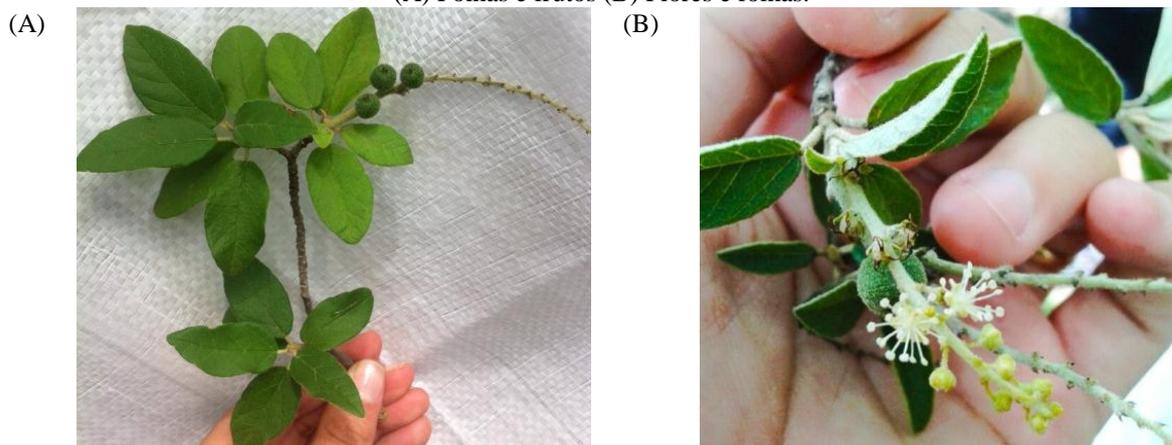
2.2.1 *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm

A espécie *C. rhamnifolioides* (Figura 1 A/B) pertence ao gênero *Croton* e família Euphorbiaceae. Na medicina popular é conhecida como “quebra-faca” ou “caatinga-branca” - o primeiro nome refere-se à rigidez de seu tronco, enquanto o outro ao seu aroma e coloração do caule. Essa espécie é utilizada no tratamento de dor de estômago, mal-estar gástrico, vômitos, diarreia com sangue e para diminuir a febre (RANDAU, 2001). Em relação a sua ocorrência, a espécie de *C. rhamnifolioides* foi observada na zona das caatingas em áreas antropizadas e de vegetação com solo arenoargiloso ou arenoso (SILVA *et al.*, 2010).

Em relação aos aspectos botânicos, é considerada um subarbusto ou arbusto, podendo atingir até três metros de altura, apresentando látex incolor, tricomas dendríticos, levemente ferrugíneos ou cinzentos a negros, revestindo folhas, flores, frutos e ramos jovens, cilíndricos, acinzentados e frequentemente lenhificados. As folhas são alternas e ligeiramente subpostas no ápice, sésseis a pecioladas. Suas flores são dispostas em inflorescências terminais, racemiformes, laxas, o fruto é uma cápsula ovada e suas sementes largamente oblongas, com tegumento castanho a preto (RANDAU *et al.*, 2004).

Figura 1 - Espécie de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm coletada no município de Aiuaba – CE.

(A) Folhas e frutos (B) Flores e folhas.



Fonte: Elaborada pela autora (2014).

Quimicamente, os terpenos estão presentes em todas as partes dos vegetais, entretanto, predominam nas raízes e folhas e raízes de *C. rhamnifolioides*, sendo este o grupo de composto responsável pelo agradável aroma desses vegetais (RANDAU *et al.*, 2004). As folhas são ricas em flavonoides e nas raízes e cascas existe a predominância de alcaloides, triterpenos e esteroides (SANTOS *et al.*, 2014). Os estudos envolvendo as atividades biológicas do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* são poucos (SANTOS *et al.*, 2014), no entanto, alguns efeitos já foram comprovados na literatura, como gastroprotetor (VIDAL *et al.*, 2017), larvicida (SANTOS *et al.*, 2014) e bactericida (COSTA *et al.*, 2013).

2.3 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas constituídas de compostos voláteis, naturais e complexos, caracterizados com odor intenso e podem ser obtidos de plantas aromáticas (BAKKALI *et al.*, 2008). Apresentam características físico-químicas específicas, tais como: constituição líquida à temperatura ambiente, aspecto oleoso, incolor ou levemente amarelado, baixa estabilidade quando exposto ao ar, umidade, luz, calor e metal (SIMÕES *et al.*, 2016).

Os óleos podem ser obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta, como: folhas, caule, flores, frutos, sementes e raízes. Alguns fatores ambientais podem influenciar na produção ou concentração de metabólitos secundários, como as condições climáticas, solo, idade, ritmo circadiano e época de coleta. Os métodos cromatográficos comumente utilizados na análise da composição química são: cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa e cromatografia líquida de alta eficiência (GOBBONETO; LOPES, 2007; SIMÕES *et al.*, 2016). Os óleos voláteis apresentam importância

econômica em virtude da utilização crescente nas áreas de indústrias, como, por exemplo, alimentícia, cosmética e farmacêutica, apresentando algumas propriedades farmacológicas, entre elas: antiespasmódica, estimulante de secreções do sistema digestório, cardiovascular, antisséptica, ação sobre sistema nervoso central (SNC), anestésico local e anti-inflamatório que, todavia, exibem algumas reações tóxicas na pele e no SNC (SIMÕES *et al.*, 2016).

Estudos recentes comprovam atividades farmacológicas de óleos essenciais obtidos a partir de plantas medicinais, como: gastroprotetora (LIJU; JEENA; KUTTAN, 2015; VIDAL *et al.*, 2017), anti-inflamatória (BAYALA *et al.*, 2014; KHODABAKHSH; SHAFAROODI; ASGARPAHAH, 2015; RODRIGUES *et al.*, 2016) antinociceptiva (ANAYA-EUGENIO *et al.*, 2016; GONÇALVES *et al.*, 2017) e antioxidante (YASSA *et al.*, 2015).

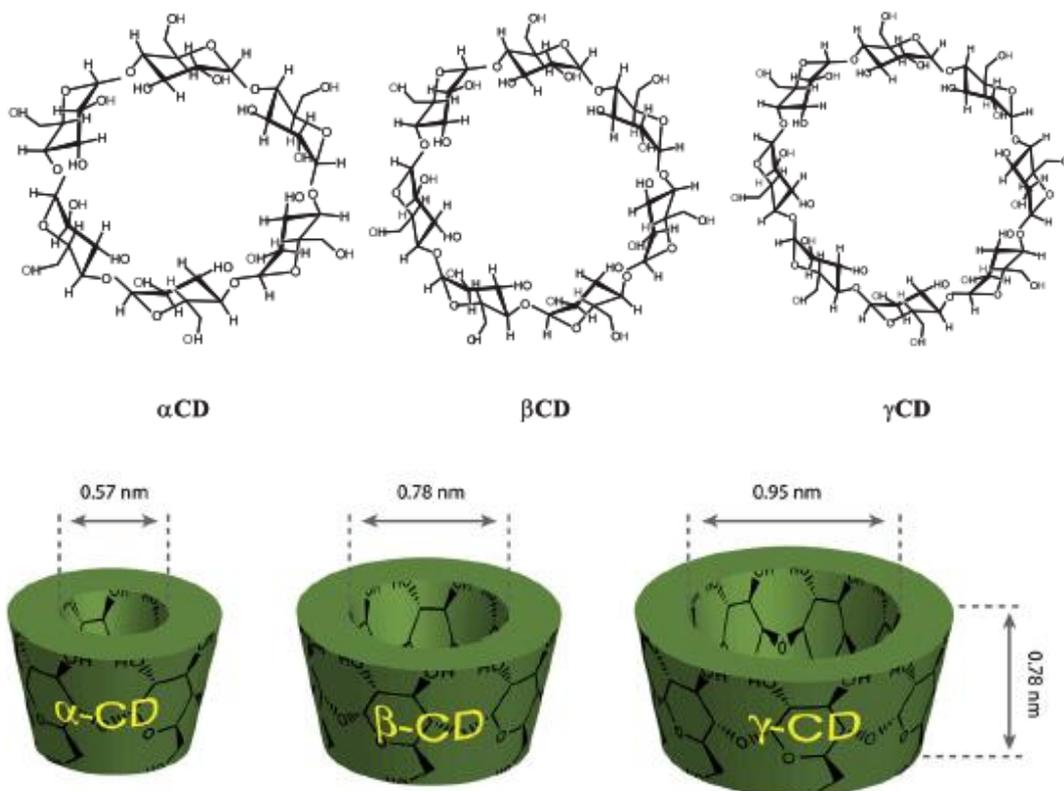
Os óleos essenciais são constituídos quimicamente principalmente de terpenos (cerca de 90%) (BAKKALI *et al.*, 2008), incluindo mono e sesquiterpenos com origem a partir do ácido mevalônico e de fenilpropanoides, originados do ácido chiquímico (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009; SIMÕES *et al.*, 2016). A diversidade química e estrutural dos óleos essenciais apresenta significativas variações com influências genéticas e sazonais, entretanto, existem representantes majoritários que podem atingir até 85% do total da composição encontrada (MIGUEL, 2010). Os monoterpenos apresentam propriedades biológicas, tais como analgésica, anti-inflamatória, cicatrizante, neuroprotetora, antioxidante, antitumoral, entre outras, e têm sido de interesse para a indústria farmacêutica e de cosméticos (ARAÚJO-FILHO *et al.*, 2016; PINA *et al.*, 2017; SERAFINI *et al.*, 2015).

Dentre os monoterpenos, o 1,8-cineol (eucaliptol) é encontrado em óleos essenciais, principalmente de espécies do gênero *Croton*, tais como: *Croton pulegioides* (ARAÚJO NEVES; CAMARA, 2012), *Croton cordifolius* (NOGUEIRA, 2014) e *Cannabis sativa* (NISSEN *et al.*, 2010). O 1,8-cineol apresenta atividades biológicas comprovadas: anti-inflamatória e antinociceptiva (EHRNHÖFER-RESSLER *et al.*, 2013; SANTOS; RAO; OTHERS, 2000), gastroprotetora (CALDAS *et al.*, 2015), antioxidante (CIFTCI *et al.*, 2011), anti-hipertensiva (MOON *et al.*, 2014), antifúngica (MORCIA; MALNATI; TERZI, 2012) e antibacteriana (OLIVEIRA *et al.*, 2015). A complexação de óleos essenciais com ciclodextrinas pode ser considerada importante na química medicinal, diante das alterações nas propriedades físico-químicas, que possibilitam a administração de doses reduzidas e, conseqüentemente, diminuição dos efeitos colaterais (AGUIAR *et al.*, 2014).

2.4 Ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos, compostos por unidades de glicose unidas através de ligações α -1,4, obtidos a partir da degradação enzimática do amido, através da enzima ciclodextrina glicosiltransferase (JUN *et al.*, 2007). As ciclodextrinas usualmente reconhecidas são as naturais que contêm seis, sete ou oito unidades de glicose, denominadas: α - ciclodextrinas, β -ciclodextrinas e γ -ciclodextrinas (CANNAVÀ *et al.*, 2008). As CDs se diferenciam através do diâmetro da cavidade (CIOBANU; LANDY; FOURMENTIN, 2013) (Figura 2) e outras características como: pureza, toxicidade, capacidade de inclusão, solubilidade e preço (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2009).

Figura 2 - Estruturas moleculares das ciclodextrinas (α , β e γ).



Fonte: Adaptado de Ciobanu; Landy; Fourmentin, 2013; Leyva *et al.*, 2004.

De maneira geral são amplamente utilizadas, contudo, a α - ciclodextrina é comumente empregada em complexos com hidrocarbonetos alifáticos e gases, a γ -ciclodextrina com moléculas maiores e orgânicas, e a β -ciclodextrina com moléculas menores e aromáticas, incluindo os derivados de terpenos (CHALLA *et al.*, 2005). As ciclodextrinas são substâncias importantes na formulação farmacêutica, sendo amplamente usadas pelas vantagens em

umentar a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de várias drogas. Estudos mostram que esses oligossacarídeos são facilmente excretados do corpo, o que torna mais eficaz a farmacocinética e são encontrados em 35 produtos farmacêuticos e alimentícios (KURKOV; LOFTSSON, 2013).

As CDs apresentam propriedades físico-químicas únicas, dentre elas, a capacidade de solubilizar-se em meio aquoso e simultaneamente encapsular no interior da sua cavidade moléculas hidrofóbicas (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2009). A capacidade das ciclodextrinas em melhorar a biodisponibilidade de algumas substâncias (SANTOS *et al.*, 2017; SITHOLE *et al.*, 2017) está associado a solubilidade, dissolução e permeabilidade promovidos de forma indireta ao fármaco hóspede (BRITO; JÚNIOR; SANTOS, 2004), uma vez que a CDs facilitam a transferência de moléculas hidrofóbicas hóspedes em solução até as membranas celulares lipofílicas promovendo a absorção. As CDs apresentam algumas aplicabilidades em formulações farmacêuticas líquidas, sólidas, semissólidas e parentéricas (LIMA GUEDES *et al.*, 2008).

A complexação ocorre devido às CDs apresentarem uma cavidade com capacidade de receber uma molécula hospedeira para que haja a compatibilidade de tamanho, forma (SZENTE; SZEJTLI, 2004) e alterações nas suas propriedades físico-químicas (estabilidade, solubilidade e biodisponibilidade) (MATIOLI, 2000; MCCORMACK; GREGORIADIS, 1998). As β -CDs apresentam uma maior representação na complexação, principalmente pelas suas características: tamanho adequado da cavidade, fácil obtenção e preço acessível (CHALLA *et al.*, 2005) e pelos estudos envolvendo atividades farmacológicas, especialmente de terpenos (NASCIMENTO *et al.*, 2014; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2013; QUINTANS *et al.*, 2013).

A complexação de monoterpenos insolúveis em água com ciclodextrinas são imprescindíveis nas atividades biológicas, como, por exemplo, o (-) -linalool complexado em β -ciclodextrina que melhorou a propriedade analgésica (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2013) e anti-hiperalgésica (NASCIMENTO, S. S.; CAMARGO *et al.*, 2014) quando comparado ao (-) -linalool não complexado. Em outro estudo, o complexo de inclusão em ciclodextrina melhorou significativamente o efeito analgésico e anti-inflamatório de p-cymene (QUINTANS *et al.*, 2013).

Em uma pesquisa atual, relata-se uma nova abordagem terapêutica promissora para a administração de fármacos no cólon a partir da complexação com CDs, em virtude das ciclodextrinas sofrerem metabolismo no cólon e no ceco e não serem absorvidas no trato gastrointestinal superior, tornando os compostos promissores em várias terapias (FIGUEIRAS, 2018). Na terapia da dor do câncer, estudo afirma que o encapsulamento de carvacrol

(monoterpenos) em β -ciclodextrina representa uma alternativa interessante no desenvolvimento de novas drogas, uma vez que melhora algumas propriedades, inclusive aumenta a solubilidade e estabilidade, e modula as respostas dolorosas associadas à patologia (GUIMARÃES *et al.*, 2015).

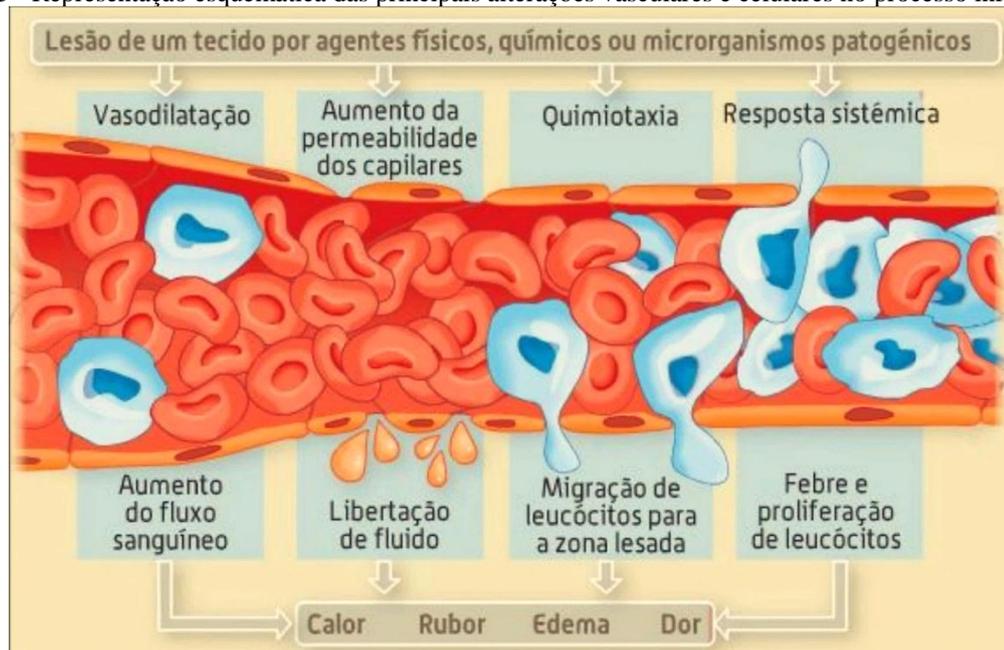
Mesmo diante da extensa e antiga aplicabilidade das ciclodextrinas em diferentes campos, seu desenvolvimento farmacêutico é recente. As atuais dificuldades existentes não representam obstáculos para a indústria farmacêutica, porém, é provável que o número de formulações contendo o adjuvante se amplie consideravelmente nos próximos anos (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2009). A investigação farmacêutica tem como objetivo principal desenvolver novos agentes terapêuticos, com o objetivo de resolver situações clínicas e integrar conhecimentos multidisciplinares (RAMA *et al.*, 2005). Alguns medicamentos anti-inflamatórios associados as β -CDs estão disponíveis no mercado mundial como a dexametasona, nimesulida e piroxicam (CUNHA-FILHO; SÁ-BARRETO, 2009).

Com relação as propriedades farmacológicas de complexos de inclusão, alguns já tiveram seus efeitos comprovados, como: antinociceptivo, anti-inflamatório (QUINTANS *et al.*, 2013; SIQUEIRA-LIMA *et al.*, 2014), anti-hiperalgésico (NASCIMENTO *et al.*, 2014), anticonvulsivante (LINS *et al.*, 2014), antimicrobiana (HILL; GOMES; TAYLOR, 2013; TAO *et al.*, 2014) e antioxidante (GABALDÓN *et al.*, 2010).

2.5 Inflamação

A inflamação é considerada uma resposta ou mecanismo de proteção do tecido à injúria celular, que pode ser desencadeada a partir de uma variedade de agentes lesivos, de natureza física, química ou biológica (NWAEHUJOR *et al.*, 2014). Durante este processo, ocorre uma sequência de eventos celulares e bioquímicos, dentre eles: extravasamento de fluídos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e de reparo (BECKER, 1983). As principais alterações vasculares e celulares estão representadas na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática das principais alterações vasculares e celulares no processo inflamatório.



Disponível em: <<http://protfolio-de-biologia.webnode.pt/news/resposta-inflamatoria/>>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2017.

No processo inflamatório ocorrem sinais clássicos, como calor, rubor, tumor (edema), dor e perda da função do tecido ou órgão, associado a traumas, lesões térmicas, infecções, isquemia e reações imunológicas (CHOI; CHA; JEON, 2012; KIM; DEUTSCHMAN, 2000).

Nesse processo ocorrem eventos vasculares, como o aumento do fluxo sanguíneo, retração de células endoteliais, aumento da permeabilidade vascular, extravasamento de macromoléculas que favorecem ao edema e, por conseguinte, a quimiotaxia (LAPA *et al.*, 2003).

A inflamação é dividida em fases: I - aguda, pela qual apresenta duração relativamente rápida, tendo como características principais, alterações estruturais (extravasamento de macromoléculas plasmáticas) produzindo o edema (exsudato) e, por fim, acontece a migração de células polimorfonucleares (neutrófilos) no tecido inflamado. As alterações vasculares e celulares estão associadas aos mediadores inflamatórios, como $TNF\alpha$, IL-1, PGE e PAF (LEY, 2002). Contudo, se o agente causador da inflamação não for eliminado, o processo irá persistir para a fase crônica (NWAEHUJOR *et al.*, 2014); II – crônica, que tem uma duração maior (prolongada), envolvendo aumento de células inflamatórias mononucleares (linfócitos, monócitos e plasmócitos) com presença de exsudato, destruição do tecido e processo de cicatrização (angiogênese e fibrose) (GUPTA *et al.*, 2003).

Durante o processo inflamatório, são liberados mediadores inflamatórios em resposta a um estímulo nocivo (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2015), derivados a partir de componentes plasmáticos e celulares, podendo se diferenciar de acordo com suas características bioquímicas,

em aminas vasoativas, peptídeos vasoativos, mediadores lipídicos, derivados do sistema complemento, citocinas, quimiocinas e enzimas proteolíticas (CRUVINEL *et al.*, 2010). Dentre os mediadores, podem ser citados: NO, PGE₂, IL-6, IL-10 e fator de necrose tumoral α , considerados alvos nos tratamentos da inflamação (JAIN *et al.*, 2013).

A histamina e serotonina são aminas vasoativas que atuam como mediadores pré-formados armazenados em grânulos celulares que estão entre os primeiros liberados após a indução do processo inflamatório (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2015). A histamina atua sobre receptores em células endoteliais acoplados a proteína G. Os receptores histamínicos são responsáveis pela resposta inflamatória através da ativação das vias de sinalização intracelular, promovem a vasodilatação e aumentando a permeabilidade vascular (JUTEL; AKDIS; AKDIS, 2009).

O óxido nítrico (NO) é um dos mediadores liberados no processo inflamatório agudo e crônico que está relacionado com a produção de exsudato e quimiotaxia (KOELZER *et al.*, 2009) e apresenta ação moduladora das respostas inflamatórias e anti-inflamatórias (ADAMS, 1996). O NO promove algumas alterações na resposta inflamatória, como vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e o edema, envolvendo o aumento do fluxo sanguíneo e produção de prostaglandinas (SALVEMINI *et al.*, 1996). Apresenta também outras funções importantes, como a capacidade de reduzir a agregação plaquetária, ação antimicrobiana em altas concentrações e o relaxamento do músculo liso (CRUVINEL *et al.*, 2010).

Alguns mediadores inflamatórios têm origem a partir do ácido araquidônico (AA) (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2015) formado a partir dos fosfolipídios de membranas celulares através da ação da enzima fosfolipase A₂. O AA dá origem a ciclooxigenase (COX) que apresenta três isoformas (COX1, COX2 e COX3), 5-lipoxigenase (5-LO), 12-lipoxigenase (12-LO) e 15-lipoxigenase (15-LO) que liberam as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos (SERHAN; OLIW, 2001).

As prostaglandinas promovem vasodilatação, febre, dor (CRUVINEL *et al.*, 2010), edema, contração ou relaxamento da musculatura lisa e atuam na manutenção de algumas funções biológicas nos rins e no epitélio das mucosas (TSELEPIS; CHAPMAN, 2002). O leucotrieno B₄ promove a ativação e adesão de leucócitos ao endotélio e sua migração, induzindo a formação de radicais livres nos neutrófilos (CRUVINEL *et al.*, 2010). Os anti-inflamatórios não esteroides são fármacos que têm ação sobre o metabolismo do ácido araquidônico, impedindo a produção da COX que, por sua vez, reduz a liberação de PGs e, conseqüentemente, o processo inflamatório (KATZUNG; TREVOR, 2017).

As citocinas são polipeptídeos produzidos por vários tipos de células e são consideradas importantes mediadores nas respostas inflamatórias e imunológicas, agindo como moléculas mensageiras (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2015). As citocinas podem ser consideradas de duas formas: pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6, IL-7 e TNF) e anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, IL-13) (OLIVEIRA *et al.*, 2011). As citocinas apresentam atividades biológicas como imunomoduladoras, inflamatórias, atuando ainda nos sistemas de defesa das parasitoses e reações alérgicas (VARELLA; FORTE, 2001).

A interleucina (IL-6) é caracterizada como uma citocina imprescindível na defesa do hospedeiro, estando presente na inflamação e produzida por uma diversidade de células. Não obstante, atua na produção de proteínas durante a fase aguda, sendo responsável pela resposta inflamatória local e sistêmica (HUSSEIN *et al.*, 2012; YU *et al.*, 2002). O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é um mediador que age induzindo as respostas imunes inatas através da ativação das células T e macrófagos, favorecendo o surgimento de outras citocinas consideradas inflamatórias (HUANG *et al.*, 2011; YUN *et al.*, 2008).

O sistema complemento é formado por mais de 20 glicoproteínas plasmáticas, sua síntese ocorre especialmente no fígado. Durante a ativação do processo, ocorre a produção de diversos mediadores que desencadeiam alterações vasculares que colaboram para a resposta inflamatória. Posteriormente, ocorre a formação do MAC (Complexo de Ataque à Membrana), lise celular, resultando na eliminação do agente infeccioso (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2014).

A ativação do sistema complemento favorece os mecanismos que agem na imunidade inata e adaptativa (BARRINGTON *et al.*, 2001). Durante a ativação, são liberados mediadores plasmáticos com propriedades biológicas essenciais, entre eles o C3a e C5a, que estimulam liberação de histamina. Entretanto, o C5a apresenta também ação quimiotática para fagócitos e o C3b age como opsonina, intensificando o processo de fagocitose (CRUVINEL *et al.*, 2010). Dentre sinais clássicos do processo inflamatório, a dor inflamatória é considerada um reflexo da liberação de mediadores inflamatórios que induzem a sensibilização de nociceptores nas terminações de fibras nervosas aferentes primárias (fibras C e A δ), desencadeando resposta como alodinia e hiperalgesia (LAPA *et al.*, 2003). Dentre os mediadores envolvidos na dor, a bradicinina foi o primeiro descrito. Posteriormente, foram identificados outros mediadores, como as prostaglandinas, leucotrienos, serotonina, adenosina, histamina, interleucinas e fator de necrose tumoral, substância P e outros (REICHLING; LEVINE, 1999). A bradicinina é um peptídeo vasoativo que provoca alterações vasculares, como a vasodilatação e aumento de

permeabilidade vascular, promovendo o estímulo algico nas terminações nervosas (CRUVINEL *et al.*, 2010).

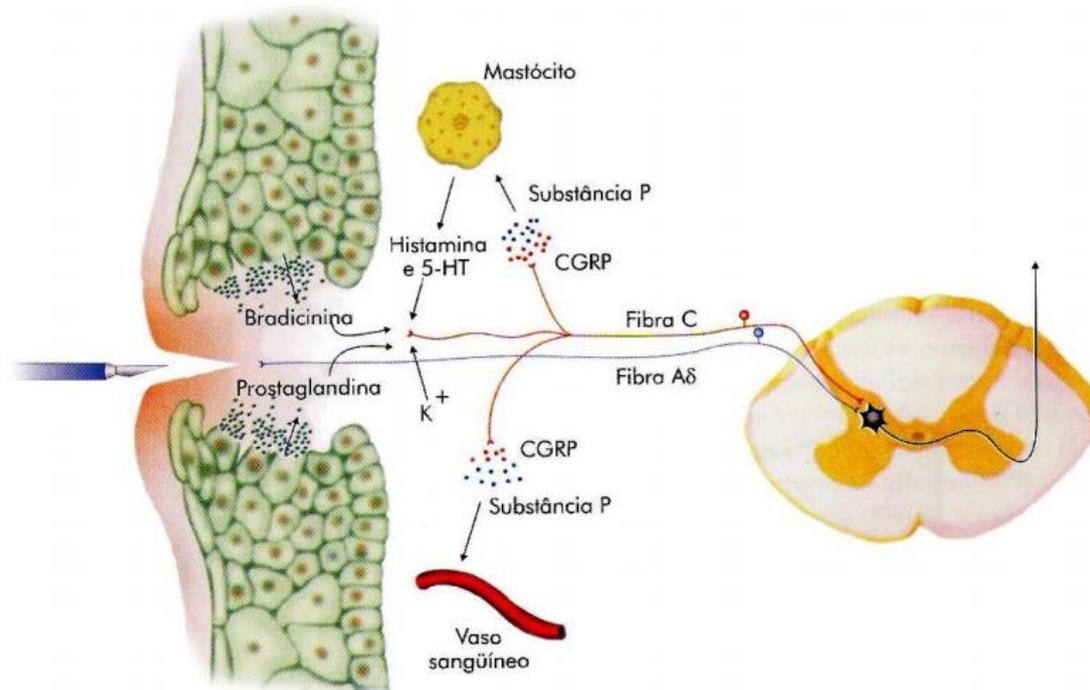
2.6 Nociceção e dor

O termo nociceção (em latim, *nocere*, “doer”) faz referência ao processo sensorial estimulado. Apesar disso, a dor refere-se à percepção de uma sensação ou sentimento descritível como dor, podendo variar entre irritativa, dolorosa, persistente, pulsátil ou intolerável. Portanto, é importante ressaltar que nociceção e a dor são distintas em aspectos, de tal forma que uma pessoa com lesões teciduais pode ou não apresentar o comportamento da dor. No entanto, a nociceção pode desencadear a dor, aparente ou não, como, por exemplo: uma pessoa pode ter uma sensação de dor sem efeito nociceptivo evidente (PATEL, 2010).

A dor pode ser considerada uma sensação subjetiva desencadeada através de uma experiência emocionalmente desagradável, levando em conta que o nível de intensidade dos componentes da dor sofrem influência das características relacionadas ao estímulo (CALVINO; GRILO, 2006). Com relação à classificação, a dor pode ser definida a partir do tipo de lesão e mediadores envolvidos, como: neurogênica (lesão do tecido neuronal); nociceptiva (estimulação excessiva dos nociceptores); neuropática (disfunção de um nervo); e psicogênica (fatores psicológicos). Porém, com relação ao tipo, a aguda está associada à ativação local de nociceptores a partir de uma lesão tecidual, podendo desaparecer de forma rápida. Contudo, a dor crônica é consequência de uma lesão ou doença que persiste e ultrapassa o tempo de recuperação do organismo, ou seja, tem duração longa, e pode levar ao desenvolvimento de incapacidade e sofrimento (MILLAN, 2002). A lesão tecidual ou neuronal promove a sensibilização dos receptores, provendo um mecanismo nociceptivo periférico ou central (ROCHA *et al.*, 2007).

Os mecanismos periféricos da dor envolvem algumas etapas. Inicialmente, irá ocorrer o estímulo de natureza química, térmica ou mecânica (WILLIS JR, 2007), em que promovem a liberação de substâncias algio gênicas, como: bradicinina, prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, acetilcolina, aminas vasoativas: histamina e serotonina, fator de ativação plaquetário e os íons potássio, que irão sensibilizar e ativar os receptores da dor (Figura 4) (TEIXEIRA, 2009).

Figura 4 - Representação esquemática dos mecanismos básicos da dor, envolvendo a lesão do tecido, liberação de mediadores químicos e transdução do estímulo.



Disponível em: <<http://etnomedicina.blogspot.com.br/2012/>>.
Acesso em: 20 de fevereiro de 2017.

Os nociceptores (receptores) são definições nervosas que têm a função de promover a transdução variável de estímulos em impulsos nervosos, fazendo com que haja a interpretação da sensação de dor (PATEL, 2010). Podem ser classificados em mecânicos, os quais respondem a pressões; térmicos, que respondem a temperaturas extremas sejam elas quentes ou frias; polimodais, que podem responder a estímulos de natureza térmica, química ou mecânica; e silenciosos, que são ativados por estímulos químicos e através de mediadores inflamatórios (FEIN *et al.*, 2011). O mecanismo da dor consiste a partir dos corpos celulares das terminações nervosas que se situam nos gânglios raquidianos ou, no caso do nervo trigeminal, nos gânglios trigeminais, que enviam uma ramificação de fibra nervosa para a periferia e outra para a medula espinhal ou tronco cerebral (PATEL, 2010).

As fibras nociceptivas são compostas de nervos aferentes e eferentes, se diferenciam entre si pelo diâmetro, mielinização, velocidade em que o estímulo é transmitido e tipo de sensação da dolorosa (FEIN *et al.*, 2011), podendo ser classificadas em subtipos I e II (A δ 1, A δ 2, C1 e C2) (ROCHA *et al.*, 2007). As fibras A δ são consideradas nervos de maior diâmetro, mielinizadas, que conduzem impulsos nervosos de forma mais rápida, respondendo aos estímulos mecânicos e mecanotérmicos e produzem uma sensação de dor aguda e rápida (20 m/seg. = 72 km/h). Diferentemente, as fibras nervosas C apresentam nervos de pequeno

diâmetro, não mielinizados, que conduzem lentamente o impulso nervoso (2 m/seg. = 7,2 km/h), respondendo de forma polimodal aos estímulos térmicos, mecânicos e químicos, desencadeando uma sensação de dor caracterizada de leve, moderada e lenta (PATEL, 2010). Todavia, as fibras podem transmitir estímulos não nocivos ou inócuos, como calor, frio ou mecânico (FEIN *et al.*, 2011).

No mecanismo periférico, a ativação dos nociceptores localizados nas terminações das fibras A δ e C promoverá modificações na sua membrana, gerando o potencial de ação. As fibras agem traduzindo o estímulo nociceptivo em elétrico, a qual será transmitido até o SNC e interpretado no córtex cerebral como dor (ROCHA *et al.*, 2007).

O estímulo doloroso pode desencadear uma lesão tecidual, que promoverá a liberação de algumas substâncias, dentre elas a bradicinina (GUYTON *et al.*, 2002), PGE₂ (O'BANION, 1999), interleucinas e fator de crescimento neuronal, os quais desempenham papéis essenciais no mecanismo de dor periférica (ROCHA *et al.*, 2007). Os mediadores liberados provocam alterações vasculares, como aumento da permeabilidade vascular e fluxo sanguíneo, e produzem os sinais clássicos da inflamação. Em consequência, ocorre a sensibilização periférica e estímulo doloroso (AINDA; WOOLF ; CHONG, 1993) através do mecanismo de despolarização da membrana neural, aumento do fluxo de Ca²⁺ e Na⁺, e a diminuição de K⁺ e Cl⁻ para o meio intracelular (LAI *et al.*, 2002).

Nos mecanismos centrais da dor, a transmissão e modulação do estímulo doloroso ocorre por meio da medula espinhal (WOOLF, 1989); no entanto, a sensibilização central promove modificações nos impulsos periféricos, podendo resultar na redução do limiar ou no aumento da resposta aos impulsos aferentes, descargas constantes e ampliação dos campos receptivos de neurônios do corno dorsal (ROCHA *et al.*, 2007).

Na sensibilização central os receptores específicos (inotrópicos e metabotrópicos) irão se conectar com aminoácidos excitatórios, como glutamato e aspartato. Os receptores inotrópicos: AMPA (alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico), cainato e NMDA (N-metil-D-aspartato) são classificados como rápidos e acoplados aos canais iônicos, enquanto que os metabotrópicos (Mrglu) são definidos como lentos e estão interligados à proteína G, à substância P e CGRP (peptídeo relacionado ao gene de calcitonina) que se ligam às neurocininas (NK-1 e NK-2) e às neurotrofinas as tirocinases tipo A e B (trkA e trkB) (ROCHA *et al.*, 2007). Após a interação aminoácido-receptor, serão ativados os segundos mensageiros (AMPc, proteínas -PKA e PKC-, fosfolipase A₂ e C), que irão promover a abertura dos canais de Ca²⁺ e produção de mediadores PGs e NO, glutamato e substância P, que contribuirão para o sensação dolorosa (JI *et al.*, 2003).

A dor e a inflamação são importantes na fisiologia do organismo, funcionando como sinalizador da necessidade de reparo a um dano tecidual, uma vez que alterações associadas ao processo inflamatório geralmente resultam na sensibilização periférica (WOOLFE; MACDONALD, 1944). A manifestação da dor é considerada frequente por pacientes que buscam diferentes tratamentos. Uma variedade de fármacos são utilizados na terapia da dor associados ou não à inflamação (PEURA; GOLDKIND, 2005). Neste sentido, vários estudos envolvendo plantas medicinais vêm se tornando fundamentais na descoberta de novas moléculas que podem estar associadas a outras vias de sinalização da dor e poucos efeitos adversos (MCCURDY; SCULLY, 2005).

A dor representa uma problemática de saúde que vem progredindo ao longo do tempo, em virtude dos obstáculos enfrentados no tratamento, como a falta de profissionais, recursos adequados, conhecimento e prioridade de governo. Antigamente, a dor era compreendida como um componente inevitável da vida, que os homens só podiam influenciar parcialmente devido a sua etiologia eventualmente sobrenatural, sendo posteriormente desenvolvido um conceito fisiológico sobre o controle da dor. Tendo em vista que a pesquisa básica tenha contribuído para desvendar os possíveis mecanismos da dor e facilitado o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento, os fármacos opioides são bastante úteis no tratamento da dor aguda, oncológica e neuropática (WHITE; STEIN, 2010).

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos sobre a temática, a fim de buscar variadas formas de terapia para atenuar a dor e, em destaque, estão as plantas medicinais associadas ao uso na medicina popular (ALMEIDA; NAVARRO; BARBOSA-FILHO, 2001).

Neste levantamento bibliográfico feito por Sarmiento Neto (2015), foram encontradas pesquisas com ensaios pré-clínicos envolvendo óleos essenciais de 36 espécies vegetais com atividade antinociceptiva, sendo os principais modelos de nocicepção testados: teste das contorções abdominais, formalina, placa quente e retirada da cauda (*tail-flick*).

Em experimentação animal, os animais não apresentam a capacidade de expressar verbalmente a dor, portanto, em modelos animais não será avaliada a percepção da dor, mas sim a nocicepção. As definições de dor e analgesia são atribuídas apenas para humanos. Os animais, quando submetidos a um estímulo nociceptivo, desenvolveram respostas comportamentais, motoras e fisiológicas, sendo necessário utilizar a avaliação da resposta nociceptiva (LAPA *et al.*, 2003). Na maioria das vezes, os estímulos dolorosos em espécies distintas de animais são idênticos, principalmente em relação ao limiar de dor envolvendo estímulos, sejam eles mecânicos, térmicos ou químicos; contudo, irá ocorrer uma diferença entre eles em relação à manifestação comportamental (LUNA, 2006).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito anti-inflamatório e antinociceptivo do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm e do complexo de inclusão (OEFC/ β -CD) em modelos animais.

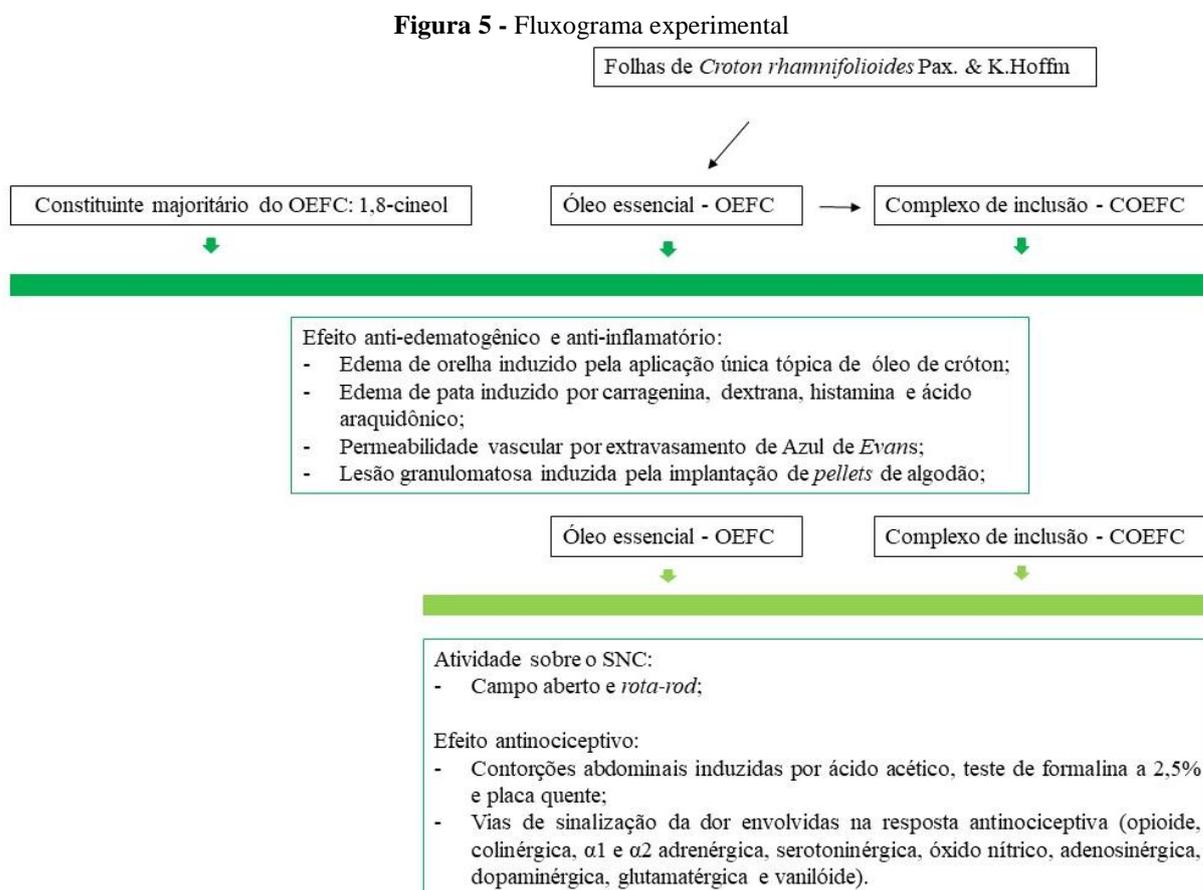
3.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição química do óleo essencial das folhas de *C. rhamnifolioides* (OEFC) por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS);
- Obter o complexo de inclusão do óleo essencial de *C. rhamnifolioides* com β -ciclodextrina (COEFC) pelos métodos de Mistura física (MF), Malaxagem (MA) e Co-evaporação (CE);
- Caracterizar físico-quimicamente os complexos de inclusão (MF, MA e CE) por meio das técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) em atmosfera inerte e oxidativa, Termogravimetria/Termogravimetria derivada (TG/DTG), Microscopia Eletrônica De Varredura (MEV) e Karl Fischer;
- Determinar a toxicidade aguda não clínica do OEFC e do COEFC;
- Investigar a atividade antiedematogênica do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC por via tópica (edema de orelha pela aplicação tópica única de óleo de cróton) e sistêmica induzida por diferentes agentes flogísticos (edema de pata induzido por carragenina, dextrana, histamina, ácido araquidônico);
- Elucidar o efeito anti-inflamatório do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC na permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* e na lesão granulomatosa induzida por *pellets* de algodão;
- Identificar a atividade do OEFC e do COEFC sobre o SNC por meio dos ensaios de campo aberto e *rota-rod*;
- Avaliar o efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC através dos modelos de contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste de formalina a 2,5% e placa quente;

- Investigar as vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e do COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os métodos utilizados nesta pesquisa estão representados no fluxograma experimental (Figura 5).



Fonte: Elaborado pela autora (2017).

4.1 Material botânico

A coleta das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm foi realizada entre os meses de maio e junho de 2014, no período da manhã, no Sítio Riacho da Caatingueira (6°40'6''S e 40°10'51''O), situado no município de Aiuaba – CE, com proximidades da Estação Ecológica de Aiuaba, cujas informações foram obtidas do aparelho de GPS. Para a realização desta coleta foi solicitada e obtida autorização do Instituto Chico Mendes de Biodiversidade - ICMBio, órgão responsável pela FLONA do Tapajós (número 47705-1) (ANEXO A). A espécie (n° exsicata: 12.062) foi identificada pela professora doutora Maria Arlene Pessoa da Silva, junto ao Herbário Caririense Dárdano de Andrade e Lima da Universidade Regional do Cariri – URCA (ANEXO B).

4.2 Extração do óleo essencial

O óleo essencial foi extraído a partir das folhas frescas (7,512 kg) por meio do sistema de hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger* modificado por Gottlieb e Magalhães (1960) (Figura 6). Após a extração, o OEFC foi acondicionado sob refrigeração até o momento dos ensaios *in vivo* e *in vitro*.

Figura 6 - Extração do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* por meio do sistema de hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger*.



Fonte: Elaborada pela autora (2014).

4.3 Análise química do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* (OEFC)

A análise da composição química do OEFC foi realizada usando um espectrômetro *Shimadzu* GC MS-QP2010 (sistema GC/MS), coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm de espessura de película), gás transportador: hélio a 1,5 mL/min. Temperatura do injetor: 250°C; temperatura do detector: 290°C; temperatura da coluna: 60°C - 180°C a 5°C/min, em seguida, 180°C - 280°C a 10°C/min (10 min.). A velocidade de leitura foi de 0,5 scan/seg de m/z 40 a 350, relação de split (1:200). Foi injetado um volume de 1 μL de [25 μL (óleo essencial)/5 mL de CHCl_3] (1:200), cujo tempo de corte do solvente foi 2,5 min. O equipamento foi operado sob energia de ionização de 70 eV e a identificação dos componentes individuais foi baseada na fragmentação espectral, utilizando padrões da biblioteca de computador NIST 08, além de dois outros parâmetros: índices de retenção e comparação com dados da literatura.

4.4 Obtenção dos complexos de inclusão

Os complexos de inclusão foram preparados no Laboratório de Ensaio Farmacêuticos e Toxicidade, na Universidade Federal de Sergipe - UFS, empregando as seguintes técnicas: Mistura física (MF): o OEFC (154,25 mg) e a β -CD (1135 mg) foram misturados mecanicamente na razão molar de 1:1 em condições ambientes; Malaxagem (MA): o OEFC (154,25 mg) e β -CD (1135 mg) foram misturados (1:1, razão molar), adicionando-se, em seguida, 1 mL de água destilada e homogeneizando a preparação com almofariz e pistilo; Co-evaporação (CE): o OEFC (771,25 mg) e β -CD (5675 mg) foram misturados mecanicamente na razão molar de 1:1 em 20 mL de água destilada sob constante agitação por 36 horas/240 rpm e, posteriormente, submetido à secagem em dessecador de vidro com sílica (MENEZES *et al.*, 2014; SERAFINI *et al.*, 2001).

4.5 Caracterização físico-química dos complexos de inclusão

As curvas DSC (calorimetria exploratória diferencial) (OEFC, β -CD, MF e MA e CE) foram obtidas, respectivamente, por meio de uma célula DSC-50 (*Shimadzu*), utilizando razão de aquecimento de 10°C/min, entre 25-500°C, sob atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL/min), empregando-se cápsula de alumínio (Al) contendo ~2 mg de amostra. Para os ensaios de TG/DTG (Termogravimetria/Termogravimetria Derivada) utilizou-se uma termobalança TGA-51 (*Shimadzu*), na faixa de temperatura de 25-500°C, sob atmosfera dinâmica de N₂ (50 mL/min) e cadinho de platina (Pt) contendo ~2mg. Para a análise no MEV, as amostras foram montadas em tubos de alumínio, posteriormente metalizadas com feixes de ouro e visualizadas em um microscópio eletrônico (JEOL modelo JSM-6390-LV) sob aceleração de voltagem de 12 kV, sob análise de varredura (MEV) que se destina basicamente ao exame de superfície das amostras, utilizando-se uma ampla faixa de aumentos que pode alcançar uma profundidade de campo aproximadamente 500 vezes maior que a microscopia ótica.

O teor de umidade (OEFC, β -CD, MF e MA e CE) foi determinado através do método de Karl Fischer (Titrino Plus KF 870-Metrohm), sendo o metanol (*Fluka*) utilizado como solução de titulação. As análises foram realizadas em triplicata (MENEZES *et al.*, 2014; SERAFINI *et al.*, 2001).

4.6 Ensaios *in vivo*

4.6.1 Animais e aspectos éticos da pesquisa

Para a realização dos ensaios *in vivo*, foram utilizados camundongos *Swiss* (*Mus musculus*), com massa corpórea entre 20-30g, monitorados no Biotério Experimental da URCA, em conformidade com as normas e procedimentos em biossegurança aplicada para biotérios. Os animais foram acondicionados em gaiolas de polipropileno e mantidos em ambiente com temperatura de $23 \pm 2^\circ\text{C}$, utilizando o ciclo claro/escuro de 12 horas e tendo livre acesso à água potável e ração específica para roedores (Labina, Presence[®]). No entanto, foi realizado um jejum (8-10 horas) de sólidos antes dos testes. Todos os procedimentos seguiram as normas de utilização de animais, sendo a pesquisa aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Animais da Universidade Regional do Cariri (CEUA/URCA - nº 43/2015.1) (ANEXO C).

4.7 Protocolos experimentais

O efeito anti-inflamatório agudo do OEFC, do COEFC e do 1,8-cineol foi determinado a partir dos modelos de edema de orelha induzido pela aplicação única tópica de óleo de cróton, edema de pata induzido por diferentes agentes flogísticos (carragenina, dextrana, histamina e ácido araquidônico), permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* e subcrônico através de lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão. Os animais foram divididos nos seguintes grupos (n = 6): controle negativo (H₂O-0,1 mL/10 g/v.o.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o. ou 2,5; 5, 10 e 20 mg/mL), 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o. ou 1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL, valores estes correspondentes a dose proporcional do OEFC) adquirido da *Sigma-Aldrich*[®] e o complexo de inclusão pela técnica de co-evaporação - COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o. ou 0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL). Os controles positivos utilizados foram: dexametasona (5 mg/kg/v.o. ou 4 mg/mL), indometacina (10 mg/kg/s.c.) e prometazina (6 mg/kg/v.o.).

Para a avaliação do efeito antinociceptivo foram realizados os seguintes protocolos: contorções abdominais por ácido acético, teste de formalina a 2,5% e placa quente. Os animais foram divididos em grupos (n = 6): controle negativo (H₂O-0,1 mL/10 g/v.o.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) e os controles positivos: indometacina (10 mg/kg/s.c.) ou morfina (5 mg/kg/s.c.). A partir da menor dose efetiva, foram investigadas as vias de sinalização da dor (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica,

serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide) envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.).

4.7.1 Toxicidade aguda não clínica

Os estudos de toxicidade aguda foram realizados com camundongos *Swiss*, descrita pela OECD 425 (GUIDELINE, 2001) com ligeiras modificações. Os animais foram divididos aleatoriamente em grupos (n = 3) submetidos a um jejum (8-10 horas) de sólidos e acesso livre à água. O grupo de controle recebeu H₂O (0,1 mL/ 10 g/v.o.) e os grupos tratados com OEFC ou COEFC uma dose única de 2000 mg/kg por via oral. Os animais foram observados em 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após tratamento e, diariamente, durante 14 dias em relação aos sinais clínicos de toxicidade ou mortalidade (MALONE, 1977).

4.7.2 Efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC

4.7.2.1 Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

Inicialmente, os animais (n = 6) receberam tratamento por via tópica nas suas orelhas direitas, com 20 µL (10 µL na face interna da orelha e 10 µL na face externa da orelha) de H₂O, dexametasona (4 mg /mL), OEFC (2,5; 5, 10 e 20 mg/mL), 1,8-cineol (1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL) e COEFC (0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1 hora foi aplicado topicamente 20 µL de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona na orelha direita (OD) e 20 µL do controle – acetona – na orelha esquerda (OE). Após 6 horas, os animais foram eutanasiados (câmara de CO₂) e, com auxílio de um *punch* (perfurador de couro metálico), foram removidos discos de 6 mm de diâmetro de cada orelha para avaliação do percentual de inflamação. Cálculo do percentual de inflamação: $(MOD - MOE/MOE) \times 100$, sendo MOD: massa (g) do disco da orelha direita e MOE: massa (g) do disco da orelha esquerda (TUBARO *et al.*, 1986).

4.7.2.2 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de carragenina/dextrana 1%

Foram utilizados grupos de camundongos *Swiss* (n = 6) que tiveram o volume inicial (Vi) da pata posterior direita/esquerda avaliado por pletismometria. Logo em seguida, os animais foram pré-tratados de acordo com os grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.),

indometacina (10 mg/kg/s.c.); controle para carragenina -, prometazina (6 mg/kg/ v.o.) - controle para dextrana -, OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1h (v.o) ou 30 min (s.c.), os animais receberam carragenina/dextrana 1% (p/v) (20 µl/pata) na pata posterior direita e controle basal-salina 0,9% (20 µl/pata) na pata esquerda. O volume das patas traseiras direita e esquerda de cada animal foi registrado após 1, 2, 3, 4 horas da injeção do agente flogístico (carragenina/dextrana) e controle basal para mensuração do edema, conforme descrito no item 4.7.2.5 (WINTER; RISLEY; NUSS, 1962).

4.7.2.3 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de histamina a 1%

No modelo de edema de pata induzido por histamina, os animais (n = 6/camundongos) tiveram o volume inicial (Vi) das patas posteriores direita e esquerda avaliado por pletismometria. Posteriormente, foram pré-tratados de acordo com os grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), prometazina (6 mg/kg, v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1 hora, os animais receberam histamina 1% (p/v) (20 µl/pata) na pata posterior direita e salina 0,9% (20 µl/pata) na pata esquerda. O volume das patas traseiras direita e esquerda de cada animal foi registrado após 30, 60, 90, 120 e 180 minutos da injeção da histamina e do controle basal para mensuração do edema, conforme descrito no item 4.7.2.5 (MALING *et al.*, 1974; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

4.7.2.4 Edema de pata induzido pela injeção intra-plantar de ácido araquidônico a 1%

Inicialmente, os animais (n = 6) tiveram o volume inicial (Vi) das patas posteriores direita e esquerda avaliado por pletismometria. Logo em seguida, receberam o tratamento de acordo com os grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), indometacina (10 mg/kg/s.c.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Posteriormente, 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (s.c.) dos tratamentos, os animais receberam ácido araquidônico 1% (p/v) (20 µl/pata) na pata posterior direita e veículo-salina- (20 µl/pata) na pata esquerda. O volume das patas traseiras direita e esquerda de cada animal foi registrado após 15, 30, 45, 60 e 90 minutos da injeção do ácido araquidônico e do controle basal para mensuração do edema, conforme descrito no item 4.7.2.5 (DIMARTINO *et al.*, 1987; KUNNAJA; WONGPALEE; PANTHONG, 2014).

4.7.2.5 Mensuração do edema

O método de pletismometria foi utilizado para avaliação dos modelos de edema de pata induzido por agentes flogísticos (carragenina, dextrana, histamina e ácido araquidônico). Os animais tiveram o volume inicial (V_i) das patas posteriores direita e esquerda avaliado antes da administração do agente flogístico. A expressão dos resultados foi obtida pela diferença entre o volume final e o inicial da pata de cada tempo, calculados na fórmula: Volume do edema da pata direita ou esquerda (em μL), = V_f (volume final) – V_i (volume inicial) (WINTER; RISLEY; NUSS, 1962).

4.7.3 Efeito anti-inflamatório do OEFC, 1,8-cineol e COEFC

4.7.3.1 Permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans*

No ensaio de permeabilidade vascular, os animais ($n = 6$ /camundongos) foram tratados de acordo com os seguintes grupos: controle H_2O (0,1 mL/10 g/v.o.), controle basal (não recebeu agente indutor), indometacina (10 mg/kg/s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Logo após os tratamentos, foi administrado azul de *Evans* a 1% (0,2 mL/animal/plexo retro orbital). Após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (s.c.) dos tratamentos, foi injetado 1 mL de carragenina (1%/ i.p.). Após 4 horas da indução, os animais foram eutanasiados (câmara de CO_2) e injetado 3 mL de PBS no peritônio. Realizou-se uma massagem no peritônio, seguida da assepsia com álcool a 70 %, coleta do lavado - material biológico - (1,5 á 2 mL) e sua centrifugação (6000 rpm/3300g/2 min/20 °C).

Posteriormente, realizou-se a dosagem de proteínas (LAPA *et al.*, 2003). Para a determinação do nível de proteínas totais foi utilizado o método enzimático (LABTESTE®), em que os íons de cobre (Cu^{2+}) em meio alcalino (reagente de biureto) reagem com as ligações peptídicas das proteínas séricas formando a coloração púrpura, cuja absorbância foi medida em 492-600nm (ELISA), sendo diretamente proporcional à concentração de proteínas da amostra.

4.7.3.2 Lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão

Os animais foram previamente anestesiados com ketamina (80 mg/kg/ i.p.) e xilazina (20 mg/kg/ i.p.). Posteriormente, foram implantados quatro *pellets* de algodão (estéreis),

pesando cerca de 10 mg (0,01g) cada, no dorso de cada animal (n = 6/grupo) por meio de uma pequena incisão dorsal. Em seguida, os animais foram tratados por dez dias consecutivos (1x/dia) em grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), dexametasona (5 mg/kg/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), ambos diluídos em água e *Tween* 80. No décimo primeiro dia, os animais foram submetidos à eutanásia (câmara de CO₂), sendo removidos os *pellets* de algodão, com o tecido fibrovascular circundante, pesados e submetidos à secagem em estufa (40°C/24h) e, logo após, pesados novamente. Os resultados foram expressos como a diferença entre a massa inicial (40 mg/ 0,04g) e final (LALITHA; SETHURAMAN, 2010). Depois, após a remoção e pesagem dos *pellets*, foi realizada a dosagem de proteínas totais presentes no homogenato. Para a determinação do nível de proteínas totais foi utilizado o método enzimático (LABTESTE®), conforme descrito no ensaio de permeabilidade vascular (item 4.7.2.6).

4.7.4 Efeito sobre sistema nervoso central do OEFC e COEFC

4.7.4.1 Campo aberto

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram tratados da seguinte forma: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), diazepam (5 mg/kg/ i.p.), OEFC (200 mg/kg/v.o.) e COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.), os animais foram colocados individualmente no campo aberto por um período de 5 minutos, sendo registrada a exploração horizontal (números de cruzamentos), comportamentos de autolimpeza (“*grooming*”) e exploração vertical (“*rearing*”) (ARCHER, 1973).

4.7.4.2 “*Rota-rod*”

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram selecionados e pré-treinados com até 3 sessões (1 minuto), 24 horas antes do tratamento. Os animais selecionados foram divididos em grupos e tratados, respectivamente: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), diazepam (5 mg/kg/ i.p.), OEFC (200 mg/kg/v.o.) e COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80 e, após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.), foram colocados no aparelho *rota-rod* durante 1 minuto (16 rpm), sendo registrado o número de quedas (DUNHAM; MIYA, 1957).

4.7.5 Efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC

4.7.5.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram tratados de acordo com os grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), indometacina (10 mg/kg/s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (s.c.) dos tratamentos, eles receberam ácido acético glacial PA (0,6%/0,1 mL/10 g/ i.p.) diluído em água de injeção. Depois da administração do ácido acético, os animais foram colocados sob funis de vidro individuais transparentes, durante 30 minutos, sendo o número de contorções abdominais quantificadas cumulativamente e caracterizadas pela contração e rotação do abdômen, seguida pela extensão de uma ou ambas patas traseiras (KOSTER, 1959).

4.7.5.2 Teste da formalina a 2,5%

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram tratados: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), morfina (5 mg/kg/ s.c.), indometacina (10 mg/kg/ s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. Após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (s.c.), os animais foram submetidos a uma injeção de 20 µl de formalina (2,5%) na pata direita (espaço sub-plantar) sendo, logo após a aplicação da formalina, colocados individualmente sob funil de vidro invertido, ao lado de um espelho com a finalidade de facilitar a observação. O tempo foi registrado (segundos), em que o animal lambeu, permaneceu lambendo ou mordendo a pata injetada (“*licking-time*”) durante a primeira fase, atribuída de caráter neurogênica (0 - 5 min.) e segunda fase caracterizada de inflamatória (15 - 30 min.) (TJØLSEN *et al.*, 1992).

4.7.5.3 Placa quente

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram colocados individualmente em uma placa quente de temperatura (52-54°C ± 0,5°C). Após a obtenção de dois valores basais (com intervalos de 24 horas/30 minutos antes do ensaio), foram tratados de acordo com os grupos: controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), morfina (5 mg/kg/ s.c.) OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) diluídos em água e *Tween* 80. A resposta foi seguidamente avaliada após 30, 60 e 120 e 180 minutos da administração dos tratamentos, sendo o tempo

máximo de contato do animal com a placa quente mantido em 15 segundos (tempo de corte-basal) e 30 segundos (tempo de corte-teste) para evitar lesões nas patas. A resposta nociceptiva foi caracterizada pela agitação das patas posteriores, lambe as patas, levantar a pata ou pular da placa (JACOB; RAMABADRAN, 1978).

4.7.6 Vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide)

4.7.6.1 Participação do sistema opioide

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram divididos em 8 grupos, de forma que os 4 primeiros grupos foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), morfina – agonista opioide - (5 mg/kg/s.c.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), respectivamente, e os outros com administração prévia de 15 minutos antes do tratamento com naloxona – antagonista opioide - (4 mg/kg i.p.). Após 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (s.c.) dos tratamentos, os animais foram avaliados em relação à nocicepção induzida pelo teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (LEWIS; BENTLEY; COWAN, 1971; WALKER *et al.*, 1999).

4.7.6.2 Participação do sistema colinérgico

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram divididos em 8 grupos, onde os 4 primeiros grupos foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), acetilcolina (agonista colinérgico; 1 mg/kg/ i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com atropina (antagonista colinérgico não seletivo; 1 mg/kg i.p.), 15 minutos antes do tratamento com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (HARTVIG *et al.*, 1989; SCHECHTMANN *et al.*, 2008).

4.7.6.3 Participação do receptor α -1 adrenérgico

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram divididos em 8 grupos, em que os 4 primeiros grupos foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), fenilefrina (agonista $\alpha 1$; 10 mg/kg i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à

administração prévia com prazosina (antagonista α_1 ; 0,15 mg/kg i.p.), 15 minutos antes do tratamento do com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (CHOI; ROWBOTHAM, 1997; SANTOS *et al.*, 2005; SATO; PERL, 1991).

4.7.6.4 Participação do receptor α -2 adrenérgico

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram divididos em 8 grupos, de maneira que os 4 primeiros foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), clonidina (agonista α_2 ; 0,1 mg/kg i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com ioimbina (antagonista α_2 ; 0,15 mg/kg i.p.), 15 minutos antes do tratamento do com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (CHOI; ROWBOTHAM, 1997; SANTOS *et al.*, 2005; SATO; PERL, 1991).

4.7.6.5 Participação da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram divididos em 8 grupos, uma vez que os 4 primeiros grupos foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), L-NOARG (inibidor da óxido nítrico sintase- NOS; 75 mg/kg, i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 4 grupos associados à administração prévia com L-Arginina (substrato da NOS; 600 mg/kg i.p.), 15 minutos antes do tratamento do com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (MELLER; GEBHART, 1993; SCHMIDTKO; TEGEDER; GEISSLINGER, 2009).

4.7.6.6 Participação do sistema vanilóide

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram divididos em 4 grupos que foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), vermelho de rutênio (antagonista TRP não seletivo; 3 mg/kg, i.p.) (CATERINA *et al.*, 1997; TOMINAGA *et al.*, 1998), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.). 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de 20 μ l a 5,2 nmol/pata de capsaicina (agonista de receptor TRPV1) e foram analisados por 5 minutos

(BEIRITH *et al.*, 1998; MANTOVANI *et al.*, 2006). O tempo (s) em que o animal lambeu a pata foi considerado como sugestivo de dor.

4.7.6.7 Participação das vias serotoninérgicas

Os animais foram divididos em 6 grupos (camundongos *Swiss* / n = 6), onde os 3 primeiros foram tratados com p-clorofenilalanina - antagonista do receptor de serotonina - (PCPA-100 mg/kg i.p., 1 vez ao dia/4 dias consecutivos) e os outros 3 foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o./ 1 vez ao dia/4 dias consecutivos). Após 30 minutos do último tratamento com PCPA e controle, os animais receberam controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.). 1 hora após os tratamentos dos grupos, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (MALEKI; NAYEBI; GARJANI, 2005; MESSING; LYTLE, 1977; SUZUKI; RYGH; DICKENSON, 2004).

4.7.6.8 Participação do sistema dopaminérgico

Os animais (camundongos *Swiss* / n = 6) foram divididos em 6 grupos: os 4 primeiros grupos foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), haloperidol (antagonista não-seletivo dos receptores de dopamina; 0,2 mg/kg i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 2 grupos associados à administração prévia com haloperidol, 15 minutos antes do tratamento com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min) (FINAN; SMITH, 2013; WOOD, 2006).

4.7.6.9 Participação do sistema adenosinérgico

Os camundongos *Swiss* (n = 6) foram divididos em 6 grupos, sendo os 4 primeiros grupos tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), cafeína (10 mg/kg/i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), e os outros 2 grupos associados à administração prévia com cafeína, 15 minutos antes do tratamento do com OEFC ou COEFC. 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, os animais foram avaliados em relação ao teste de formalina a 2,5% (primeira fase: 0-5 min.) (FERRÉ *et al.*, 2007).

4.7.6.10 Participação do sistema glutamatérgico

Os animais (camundongos *Swiss* / $n = 6$) foram divididos em 4 grupos que foram tratados com controle H₂O (0,1 mL/10 g/v.o.), ácido ascórbico (antagonista dos receptores de NMDA, 100 mg/kg i.p.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.). 1 hora (v.o.) ou 30 minutos (i.p.) após o tratamento, foram avaliados em relação em relação à nocicepção induzida pela injeção intraplantar de 20 µl a 20 µmol/pata de glutamato tamponado e foram analisados por 15 minutos, sendo registrado o tempo (s) em que o animal lambeu a pata e considerado como parâmetro sugestivo de dor (LAM *et al.*, 2005; LI; ZHUO, 1998; MAJEWSKA; BELL; LONDON, 1990; ZERAATI; ARAGHCHIAN; FARJOO, 2014).

4.8 Expressão dos dados e análise estatística

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (E. P. Média), avaliados pela análise de variância (ANOVA) de uma via e ou de duas vias, utilizando os testes de múltipla comparação de *Dunnets* e *Tukey's* (quando necessário), sendo os cálculos realizados a partir do *software* estatístico *GraphPad Prism* (versão 6.0), de acordo com os valores obtidos nos testes. Para todas as análises foi considerado significativo $p < 0,05$.

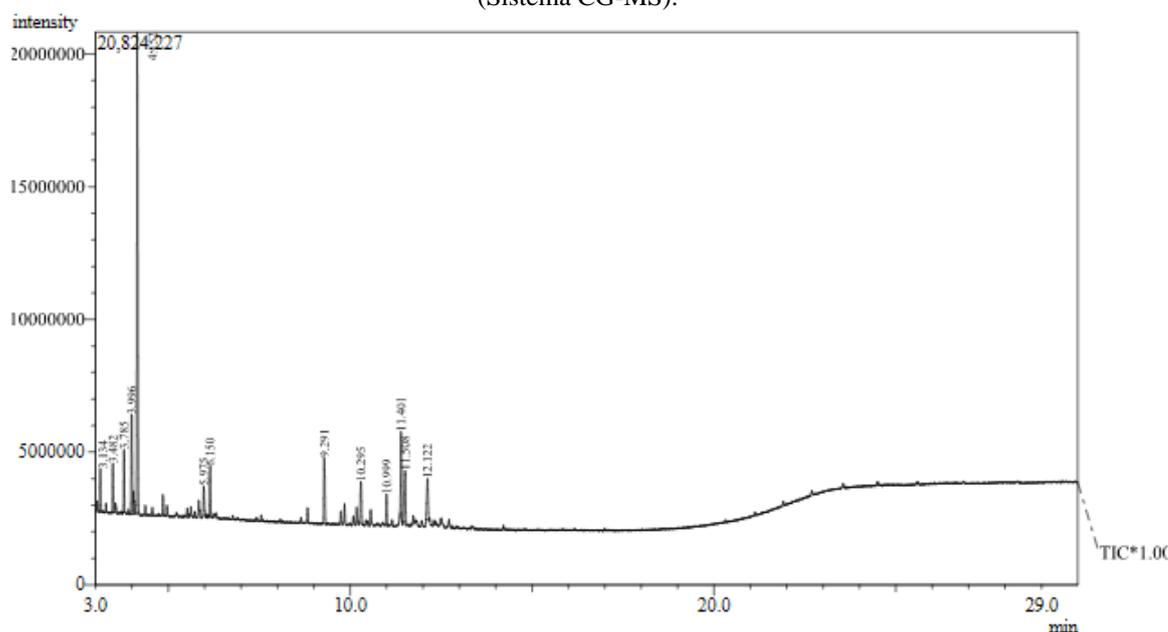
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise química do OEFC

A análise química do OEFC foi determinada pela Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) que identificou e quantificou 11 constituintes, representando 87,32% do OEFC. Dentre estes componentes, o majoritário foi o 1,8-cineol (41,33%), seguido do espatulenol (7,89%), óxido de cariofileno (7,69%), β -cariofileno (5,86%), γ -cadineno (4,96%), α -felandreno (4,45%), γ -elemeno (4,01%), sabineno (3,57%), β -ocimeno (2,86%) e terpinen-4-ol/ α -terpineol (2,35%), conforme demonstrado nas Figura 7 e Tabela 1.

A técnica de CG-MS é aplicável a compostos voláteis e termicamente estáveis nas temperaturas relativamente elevadas empregadas durante o processo de separação cromatográfica (ARDREY, 2003).

Figura 7 - Espectro dos constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* (Sistema CG-MS).



Fonte: Elaborada pela autora (2014).

O gênero *Croton* apresenta uma constituição química de óleos voláteis considerada variada, sendo os terpenos os componentes predominantes, principalmente diterpenos, os bastante relatados nas espécies (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). Em relação ao gênero *Croton*, a composição química de óleos essenciais das espécies de *Croton zenhntneri*, *Croton nepetaefolius* e *Croton argyrophylloides* apresentam: monoterpenos e sesquiterpenos,

como também arilpropanóides, com exceção do *Croton argyrophylloides*. Os constituintes E-anetol, formiato de anisila, anisaldeído, metileugenol, 1,8-cineol, α -pineno e espatulenol foram os principais identificados (MORAIS *et al.*, 2006).

Tabela 1 - Constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm.

Componentes	Tr (min)	(%)
β -ocimeno	3,14	2,86
Sabineno	3,48	3,57
α -felandreno	3,78	4,45
1,8-Cineol	4,15	41,33
terpinen-4-ol	5,97	2,35
α -terpineol	6,15	2,35
γ -elemeno	10,29	4,01
Espatulenol	11,40	7,89
β -cariofileno	9,29	5,86
óxido de cariofileno	11,51	7,69
γ -cadineno	12,12	4,96
Não caracterizado		12,68%
Total:		87,32%
Total monoterpenos		60,92%
Total sesquiterpenos		26,40%

Fonte: Elaborada pela autora (2014).

O óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* apresentou uma constituição química diversificada entre monoterpenos e sesquiterpenos. O monoterpeno 1,8-cineol foi considerado o constituinte majoritário, sendo bastante representativo na composição química de alguns óleos essenciais de espécies pertencentes ao gênero *Croton*.

O 1,8-cineol apresenta algumas atividades comprovadas na literatura, dentre elas: anti-inflamatória e antinociceptiva (EHRNHÖFER-RESSLER *et al.*, 2013; SANTOS; RAO; OTHERS, 2000), gastroprotetora (CALDAS *et al.*, 2015), antioxidante (CIFTCI *et al.*, 2011), redução da produção de muco no estômago (SUDHOFF *et al.*, 2015), inibição da inflamação pulmonar aguda (ZHAO *et al.*, 2014), atividade relaxante sobre o músculo liso intestinal (NASCIMENTO *et al.*, 2009), anti-hipertensiva (MOON *et al.*, 2014), antifúngica (MORCIA; MALNATI; TERZI, 2012) e antibacteriana (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Os terpenos estão presentes em todas as partes dos vegetais da espécie de *C. rhamnifolius/C. rhamnifolioides* prevalecendo nas raízes e folhas (RANDAU *et al.*, 2004). A análise química do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm realizada por Costa *et al.* (2013), correspondendo a 100% da composição total, quantificou que 65,20% eram monoterpenos e 34,80% sesquiterpenos. Entre os compostos identificados, o 1,8-cineol

(46,32%) e os outros componentes apresentaram concentrações significativas: 1-felandreno (16,70%), p-cimeno (10,21%), sabineno (8,14%) e trans-cariofileno (4,81%).

Em estudo realizado por Vidal *et al.* (2017) com a espécie *Croton rhamnifolioides*, o composto majoritário encontrado foi o espatulenol (22,46%), seguido de 1,8-cineol (18,32%). A variação de composição química pode ser justificada possivelmente por fatores ambientais que alteram o metabolismo secundário das plantas, como, por exemplo: tempo de coleta e local, porém, a constituição é semelhante em diversos estudos relacionados ao gênero (BITU *et al.*, 2015).

Em relação ao gênero *Croton*, o óleo essencial das folhas de *Croton cordifolius* Baill apresentou na sua constituição química o 1,8-cineol (25,09%) como componente majoritário, seguido do α -felandreno (15,43%) (NOGUEIRA, 2014), ratificando a presença pertinente do 1,8-cineol encontrado em algumas espécies do gênero *Croton*. Costa *et al.* (2008) descreveram a composição química do óleo essencial das folhas de *Croton zehntneri*, que permitiu identificar um total de 97,4% dos componentes, com presença majoritária de estragol (76,8%), seguido do 1,8-cineol (7%).

5.2 Caracterização físico-química dos complexos de inclusão do OEFC com β -ciclodextrina

Na Figura 8A, a curva de calorimetria exploratória diferencial (DSC) do OEFC apresentou evento endotérmico na faixa de temperatura de 30° - 141°C (Entalpia = - 139,13 mJ), caracterizado pela volatilização rápida do óleo essencial. A curva de DSC da β -CD apresentou três eventos, seguido de etapa de decomposição. O primeiro evento endotérmico ocorreu na faixa de temperatura de 30° - 156°C (Entalpia = 1,40 mJ), referente à desidratação da molécula. O segundo aconteceu na faixa de temperatura de 213° - 240°C (Entalpia = - 11,03 mJ), característico da transição de fase cristalina. O terceiro evento ocorreu na faixa de temperatura de 298° - 360°C (Entalpia = - 1,17 mJ), caracterizado pela fusão da β -CD, seguida da degradação da mesma.

A curva de DSC da mistura física (MF) (Figura 8A) apresentou três eventos endotérmicos seguidos da decomposição. O primeiro evento representou o somatório do OEFC e β -CD, caracterizado pela desidratação na faixa de temperatura de 29° - 136°C (Entalpia = - 546,68 mJ). O segundo evento, caracterizado por transição de fase, ocorreu na faixa de temperatura de 217° - 230°C (Entalpia = - 7,19 mJ), demonstrando que não houve complexação, tendo em vista que o mesmo evento ocorreu com a β -CD. O terceiro evento aconteceu na faixa

de temperatura de temperatura de 297° - 349°C (Entalpia = - 573,8 mJ), característico da fusão β -CD, seguida de sua decomposição.

A curva da DSC da malaxagem (MA) (Figura 8A) apresentou dois eventos endotérmicos seguidos da decomposição. O primeiro evento ocorreu na faixa de temperatura de 30° - 128°C (Entalpia = - 110,06 mJ), indicando desidratação, porém menor que a β -CD e MF, sem formação efetiva de complexo. O segundo evento aconteceu na faixa de temperatura de 306° - 339°C (Entalpia = - 84,81 mJ), caracterizado pela fusão da β -CD, seguida da decomposição. A curva da DSC da co-evaporação CE (Figura 8A) não apresentou eventos endotérmicos, o que justifica a complexação pela inserção do OEFC na cavidade da β -CD seguido apenas de decomposição na faixa de temperatura de 252° - 324°C (Entalpia = - 684,96 mJ), caracterizado pela fusão da β -CD.

A Figura 8B e a Tabela 2 apresentam as curvas de Termogravimetria/Termogravimetria derivada (TG/DTG). Através das análises observou-se que o OEFC perdeu massa até 220°C, sendo no primeiro intervalo (30 - 220°C) de 97,20% e, no segundo, (220 - 270°C) de 2,3%. A β -CD perdeu massa em quatro etapas: no primeiro intervalo de temperatura (30 - 220°C) foi observada uma perda de 12,8%, atribuída à liberação de água da estrutura da β -CD. No intervalo de 220 - 270°C não houve perda de massa considerável (0,1%), caracterizando a transição de fase descrita na curva DSC. A faixa de temperatura 270 - 380°C indicou o início o processo de decomposição da β -CD com perda de 76,6% de massa. No intervalo de 380 - 500°C ocorreu perda de 3,7% de massa.

A Tabela 2 mostra que as amostras de MF, MA e CE tiveram perda de massas no primeiro intervalo (30 - 220°C) de 19,4%, 10,1% e 8,5% respectivamente. No segundo intervalo de temperatura (220 - 270°C), as amostras obtiveram as porcentagens respectivamente: 0,5%, 2,4% e 2,6%. Na terceira faixa de temperatura (270 - 380°C), as amostras apresentaram as perdas, respectivamente, de 70,9%, 92,2% e 83,4%. No quarto intervalo de temperatura ocorreram as perdas de massas: 2,7%, 3,2% e 3,2% respectivamente.

Os dados obtidos através das técnicas de calorimetria exploratória diferencial e Termogravimetria/Termogravimetria derivada corroboram entre si, demonstrando que a complexação do OEFC na cavidade da β -CD foi mais efetiva pelos métodos de malaxagem e co-evaporação. No DSC a ausência de pico endotérmico do complexo de inclusão pelo método de co-evaporação sugere que esta cavidade está preenchida pelo OEFC, resultado diferente da amostra de mistura física, que apresentou eventos semelhantes à β -CD, sugerindo que não houve complexação. No TG as amostras de MA e CE precisaram de temperatura mais elevada

para perder massa quando comparado ao OEFC isolado, portanto, a complexação está associada à menor a perda de massa no primeiro evento.

Figura 8 - Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC (A) e Termogravimetria - TG (B) da Mistura física (MF), Malaxagem (MA) e Co-evaporação (CE) na atmosfera inerte de nitrogênio. Curvas dos complexos do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* (OEFC).

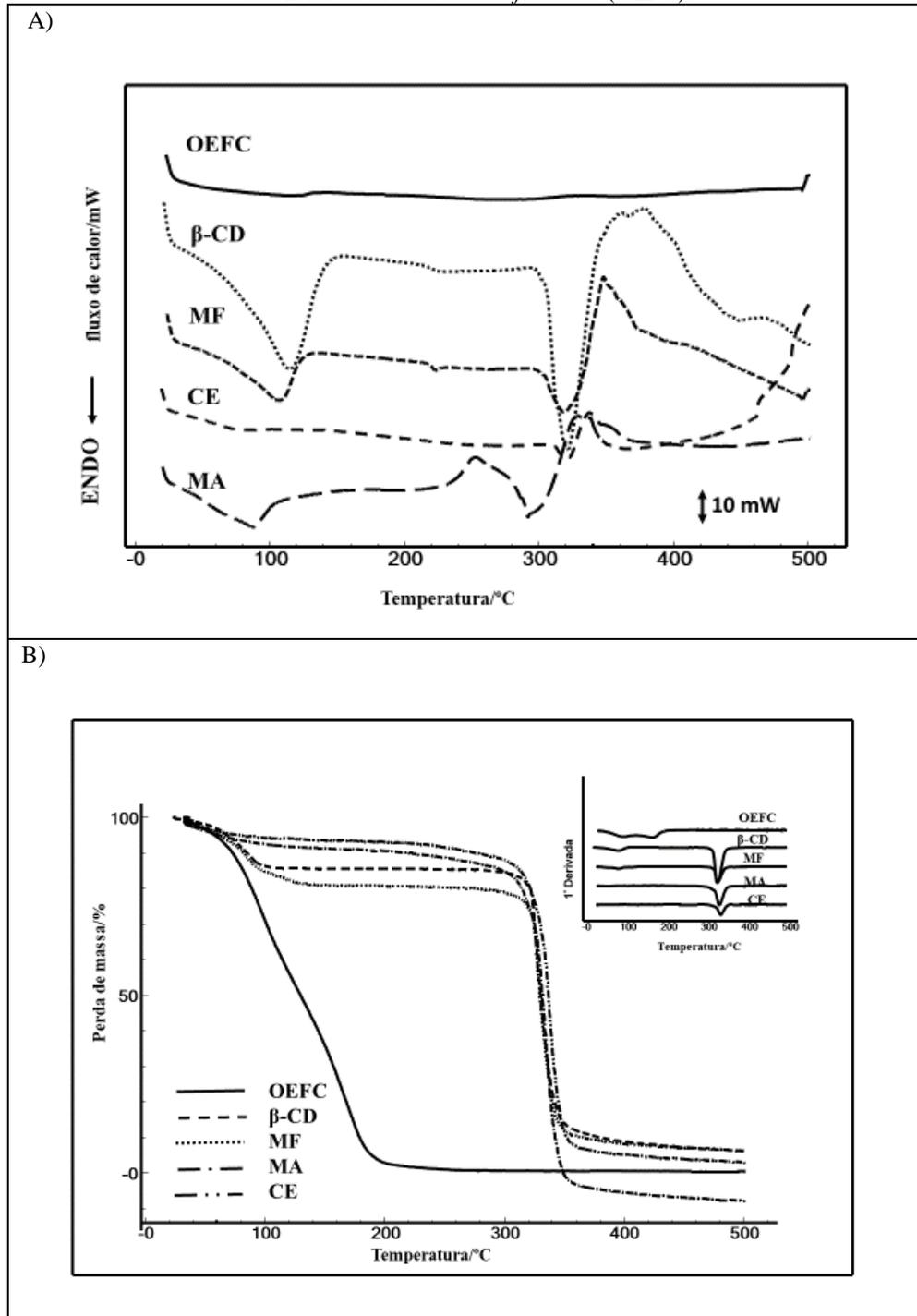


Tabela 2 - Porcentagens de perda de massa obtidas por Termogravimetria/Termogravimetria derivada das amostras de OEFC, β -CD, MF, MA e CE.

Amostra	1ª etapa/%	2ª etapa /%	3ª etapa /%	4ª etapa /%
	30-220°C	220-270°C	270-380°C	380-500°C
OEFC	97,2 ± 1,48	1,62 ± 0,35	0,88 ± 0,10	0,52 ± 0,01
β -CD	12,8 ± 1,34	0,1 ± 0,07	76,6 ± 1,48	3,7 ± 0,14
MF	19,4 ± 0,07	0,5 ± 0,01	70,9 ± 1,13	2,7 ± 0,98
MA	10,1 ± 0,2	2,4 ± 0,01	92,2 ± 2,92	3,2 ± 0,84
CE	8,5 ± 1,69	2,6 ± 0,28	83,4 ± 1,48	3,2 ± 0,56

Fonte: Elaborada pela autora (2014).

As ciclodextrinas (CDs) representam um dos agentes complexantes mais utilizados na indústria farmacêutica devido a capacidade de melhorar as propriedades físicas, químicas e biológicas das moléculas bioativas, especialmente as extraídas das plantas (PINHO *et al.*, 2014). Em estudo realizado por Jiang *et al.* (2017), que avaliou a inclusão de ácidos triterpênicos em β -CD e obteve resultados favoráveis quanto ao encaixe e ligação a cavidade da β -CD, suas análises demonstram a interação molecular e formação de complexos entre esses compostos. O pico endotérmico apresentado pela β -CD sugere a desidratação da sua cavidade, local este de interação molecular de compostos hidrofóbicos, visto que a β -CD é uma molécula anfipática, cuja seu compartimento interno é lipofílico (KHUNTAWEE *et al.*, 2015).

Sherje *et al.* (2017), em seu estudos para caracterização e formulação de complexos de inclusão do fármaco anti-inflamatório não esteroideamente importante (etodolac), descreve que complexos preparados pelo método de co-evaporação revelaram a maior solubilidade do fármaco em comparação com os complexos do método de secagem por pulverização e o método de mistura física (SHERJE *et al.*, 2017).

A técnica Karl Fisher é considerada uma ótima ferramenta para determinar o teor de água e a ligação da água com a superfície das CDs (HĂDĂRUGĂ; HĂDĂRUGĂ; ISENGARD, 2012). Na Tabela 3, o OEFC foi observado com um teor de água de 0,91 ± 0,06%, demonstrando uma eficiente extração do óleo essencial. O teor de água da β -CD foi 13,75 ± 0,39% e das técnicas: mistura física, malaxagem e co-evaporação foram de 13,45 ± 0,78%, 11,27 ± 0,32% e 12,80 ± 0,27% respectivamente.

Os resultados obtidos na análise de Karl Fisher demonstram que a mistura física não foi capaz de formar complexos de inclusão com o OEFC devido ao percentual de água. Contudo, a redução do teor de água nos métodos da malaxagem e co-evaporação sugere a complexação em virtude da substituição das moléculas de água da cavidade da β -CD, por moléculas do

OEFC. Esses dados corroboram com os resultados apresentados anteriormente pelas técnicas de DSC e TG.

Tabela 3 - Percentual de água obtido por titulação de Karl Fisher.

Amostras	% H ₂ O
OEFC	0,91 ±0,06
β-CD	13,75 ±0,39
PM	13,45 ±0,78
PC	11,27 ±0,32
SC	12,80 ±0,27

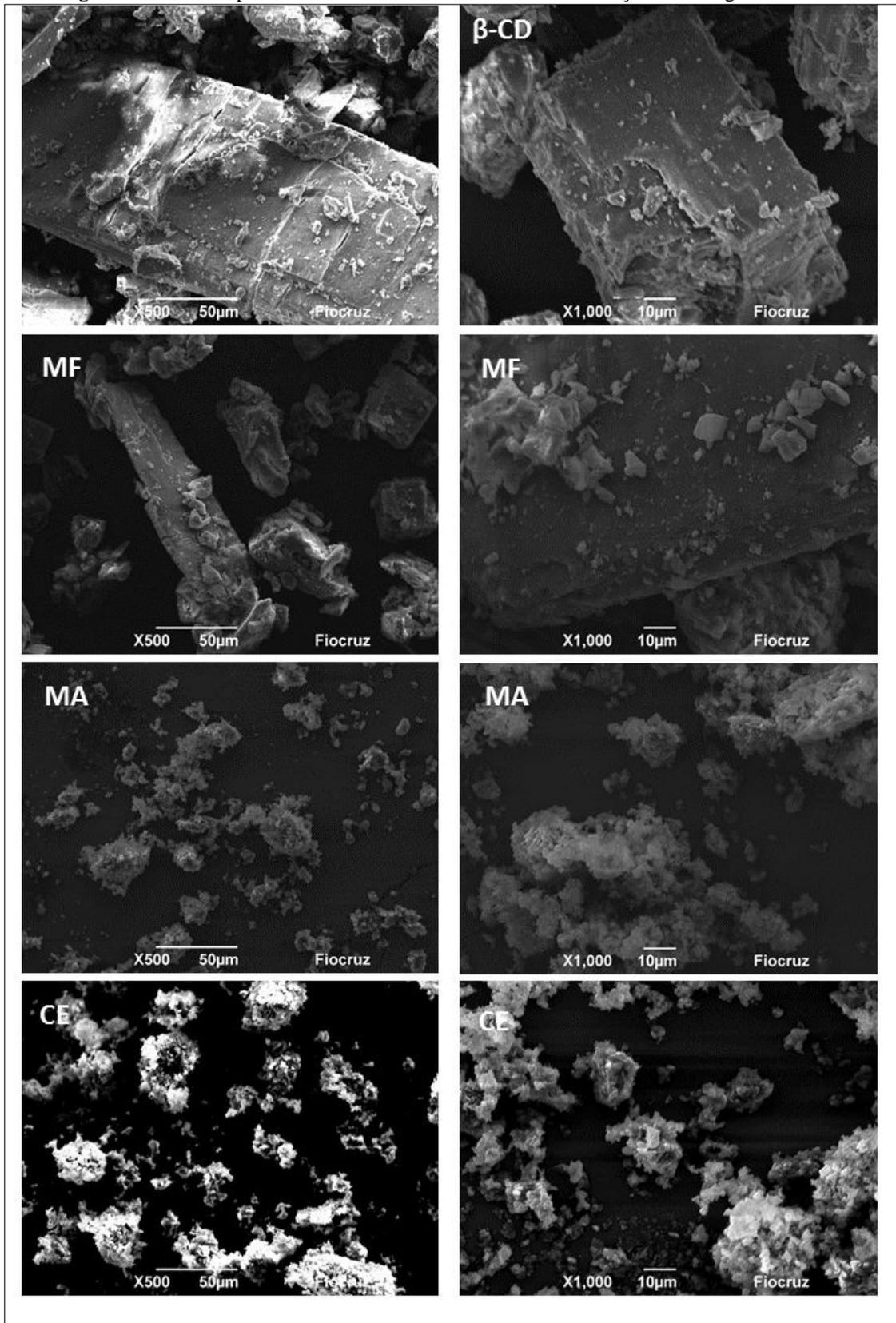
Fonte: Elaborada pela autora (2014).

Segundo Hădărugă, Hădărugă e Isengard (2012), a complexação pode estar associado a substituição das moléculas de água da cavidade da β-CD por moléculas do fármaco. De acordo com Marreto *et al.* (2008), a determinação do teor de água é importante para a qualidade do encapsulamento molecular de substâncias hidrofóbicas por meio da substituição de moléculas de água.

A Figura 9 demonstra as fotografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos métodos de inclusão molecular, onde é possível observar que a mistura física apresenta semelhanças morfológicas em relação à β-CD e as amostras de malaxagem e co-evaporação apresentaram morfologia disforme e redução no tamanho das partículas, bem como formação de agregados com morfologia indefinida.

Esses dados indicam que a mistura física este não é um método tão eficiente para formar complexos de inclusão entre OEFC e β-CD, conforme já demonstrado pelas técnicas analíticas supracitadas. No entanto, a morfologia descrita nos métodos da malaxagem e co-evaporação corroboram com os dados de DSC, TG e Karl Fischer, sugerindo a complexação do OEFC na cavidade da β-CD por estes métodos.

Figura 9 - Microscopia eletrônica de varredura obtida em aceleração de voltagem de 12 kv.



Fonte: Elaborada pela autora (2014).

Em estudo realizado por Sithole *et al.* (2017), avaliou-se a integridade de drogas em complexos de inclusão e concluiu-se o aprisionamento de 85% da droga no núcleo interno hidrofóbico do complexo, demonstrando que não promove perda da substância em questão e mantém sua integridade, assegurando o efeito clínico do medicamento e modificando apenas os padrões de solubidade a fim de melhorar a biodisponibilidade.

Em relação ao gênero *Croton*, a formação do complexo de inclusão entre o óleo essencial de *C. zenhtneri* (OEC) com β -CD, pelo método de co-precipitação em que, a partir das análises de espectroscopia de IV e DSC, foi possível verificar melhor a estabilidade do OEC complexado em comparação ao OEC livre, justificado pela introdução do óleo na cavidade fracamente polar da β -CD (AGUIAR *et al.*, 2014).

Em revisão descrita por Lima, Alves e Santana (2012), vários estudos apontam que a obtenção de complexos de inclusão com óleos essenciais, principalmente utilizando a β -CD, continua sendo a melhor opção, em virtude do menor custo e maior facilidade de obtenção, ressaltando também que as técnicas utilizadas na caracterização físico-química dos complexos são agregadas a fim de proporcionar confiabilidade dos resultados.

5.3 Toxicidade aguda não clínica

O tratamento agudo por via oral com óleo essencial de folhas de *Croton rhamnifolioides* (OEFC) e do complexo de inclusão do OEFC com β -ciclodextrina (COEFC) com uma única dose oral de 2000 mg/kg não produziu nenhum sinal clínico de toxicidade ou morte nos animais no período de 14 dias, demonstrando baixa toxicidade oral. Portanto, optou-se em utilizar $\leq 10\%$ da dose única (2000 mg/kg/v.o.) do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e $\leq 5\%$ do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.).

Em relação ao 1,8-cineol, estudo anterior realizado pelo nosso grupo, demonstrou-se que a dose letal média do 1,8-cineol variava entre 1500 mg/kg a 1750 mg/kg por via oral (CALDAS *et al.*, 2016), então, foram selecionadas as doses equivalentes à concentração do 1,8-cineol no OEFC (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) nos ensaios *in vivo*, uma vez que o 1,8-cineol é constituinte majoritário do OEFC.

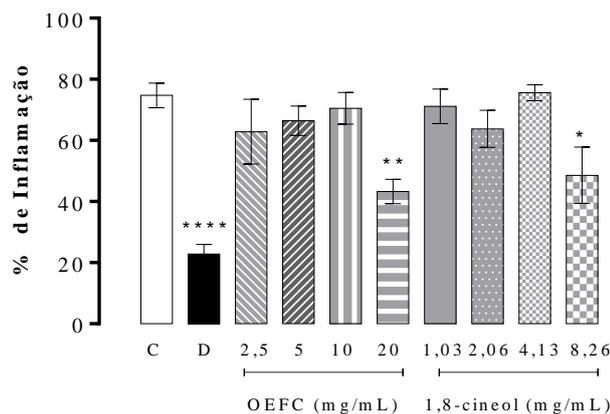
5.4 Efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC

5.4.1 Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

O edema de orelha induzido pelo óleo de cróton consiste em um modelo de triagem de substâncias que atuam na fase aguda da inflamação, assim como em processos hiperproliferativos (GÁBOR, 2003). De acordo com Tubaro *et al.* (1986), é considerado método clássico que determina resposta inflamatória através da mensuração das massas das orelhas, após um período da aplicação do óleo de cróton, sendo relevante em termos de período, infiltrado de granulócitos e resposta em relação aos anti-inflamatórios esteroides e não esteroides.

A administração única do óleo de cróton no grupo controle demonstrou uma ação efetiva na indução do processo inflamatório. A aplicação tópica do OEFC (20 mg/mL) e do 1,8-cineol (8,26 mg/mL) produziram redução significativa de 42,10 e 34,97% respectivamente, do edema induzido pelo óleo de cróton quando comparado ao grupo controle. O anti-inflamatório esteroide, dexametasona (4 mg/mL), usado como controle positivo, promoveu uma inibição significativa de 69,44% (Figura 10).

Figura 10 - Efeito do OEFC (2,5; 5, 10 e 20 mg/mL) e do 1,8-cineol (1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL) aplicados topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

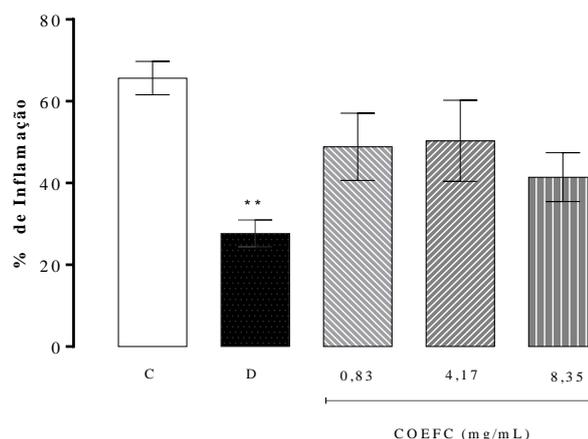
Efeito do OEFC (2,5; 5, 10 e 20 mg/mL) e 1,8-cineol (1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL) aplicado topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos. Grupos: controle - C, dexametasona-D (4 mg/mL), OEFC (2,5; 5, 10 e 20 mg/mL) e 1,8-cineol (1,03; 2,06; 4,13 e 8,26 mg/mL). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

Na Figura 11, os resultados mostram que o tratamento tópico com o COEFC nas concentrações de 0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL não apresentaram efeito antiedematogênico no edema induzido pelo óleo de cróton quando comparado ao grupo controle. Esta ação sugere que a redução da absorção do complexo de inclusão com β -CD possivelmente ocorreu em virtude da estrutura das CDs. A dexametasona (4 mg/mL), anti-inflamatório utilizado como controle positivo, apresentou uma redução significativa de 57,86% do edema em relação ao controle.

A dexametasona, um anti-inflamatório esteroide, é considerado um glicocorticoide efetivo no processo de inflamação aguda e crônica com êxito na inibição da indução de lipocortina-1, COX-2, iNOS e citocinas (IL-1 β , IL-2 e TNF- α) (MARCHIONNI; PAGNONCELLI; ALMEIDA REIS, 2006; VANE; BOTTING, 1995).

As CDs possuem na sua estrutura tridimensional uma porção externa hidrofílica que facilita sua solubilidade em meio aquoso e reduz sua penetração nas membranas epiteliais epidérmicas (RASHEED; VVNS, 2008). A estrutura química, o peso molecular e o coeficiente de partição baixo em etanol/água das CDs contribuem para que estas não sejam permeáveis nas membranas biológicas, sendo apenas a forma livre do fármaco, dependente da sua lipossolubilidade, capaz de penetrar as membranas lipofílicas (ANJANA; NAIR; JOSEPH, 2013).

Figura 11 - Efeito do COEFC (0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL) aplicado topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do COEFC (0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL) aplicado topicamente sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton em camundongos. Grupos: controle - C, dexametasona-D (4 mg/mL) e COEFC (0,83; 4,17 e 8,35 mg/mL). Valores representam a média \pm E.P.M. (Erro Padrão Da Média) para grupos de 6 animais. Sendo ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

O óleo de cróton é um agente flogístico cujos ésteres de forbol como o TPA (ácido 13-acetato de 12-o-tetracanoilforbol) é o principal responsável pela propriedade irritante que estimula a liberação de vários mediadores, como aminas vasoativas (histamina e serotonina) e pelos produtos da ciclo-oxigenase (LAPA *et al.*, 2003). O TPA atua por ativação da cascata do ácido araquidônico, por meio da ciclo-oxigenase e lipoxigenase. Em decorrência, ativa a via da MAPK pela proteína quinase C, ocasionando a ativação de alguns fatores de transcrição nuclear, dentre eles, NF- κ B e a AP-1 que desempenham papel central na regulação de diversas proteínas pró-inflamatórias, tais como algumas citocinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α), enzimas pró-inflamatórias, como COX-2 e iNOS e moléculas de adesão (BADILLA *et al.*, 2007; MURAKAWA *et al.*, 2006).

O uso tópico de TPA promove o aumento do nível de TNF- α e prostaglandina do tipo E₂ (PGE₂), sendo a elevação de TNF- α transitória, com pico em torno de 5 horas, seguido do aumento gradual do nível de PGE₂ na pele (MURAKAWA *et al.*, 2006). Segundo Andújar *et al.* (2010), após 2 horas de indução do edema, ocorre vasodilatação, infiltrado celular, com pico máximo de resposta após 6 horas de indução do processo, retornando aos valores basais após 24 horas de indução (ANDÚJAR *et al.*, 2010), o que corrobora com estudo anterior de Tubaro *et al.*, (1986) em que eles descrevem que o óleo de cróton apresenta pico máximo de 6 horas, declina na 9ª hora e mantém até a 12ª, no entanto, atinge os valores normais a partir de 48 horas. O processo inflamatório sofre diferenciação diante do tipo de tecido envolvido, agente flogístico e mediadores inflamatórios (ZANUSSO-JUNIOR *et al.*, 2011).

No modelo de edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton ocorre a liberação de mediadores inflamatórios como aminas vasoativas (histamina e serotonina) e produtos da ciclo-oxigenase na fase aguda do processo inflamatório. O OEFC apresentou percentual de inibição maior que a concentração proporcional do 1,8-cineol. Este resultado sugere um possível sinergismo de constituintes presentes no OEFC e a influência do constituinte majoritário (1,8-cineol) na fase aguda da inflamação.

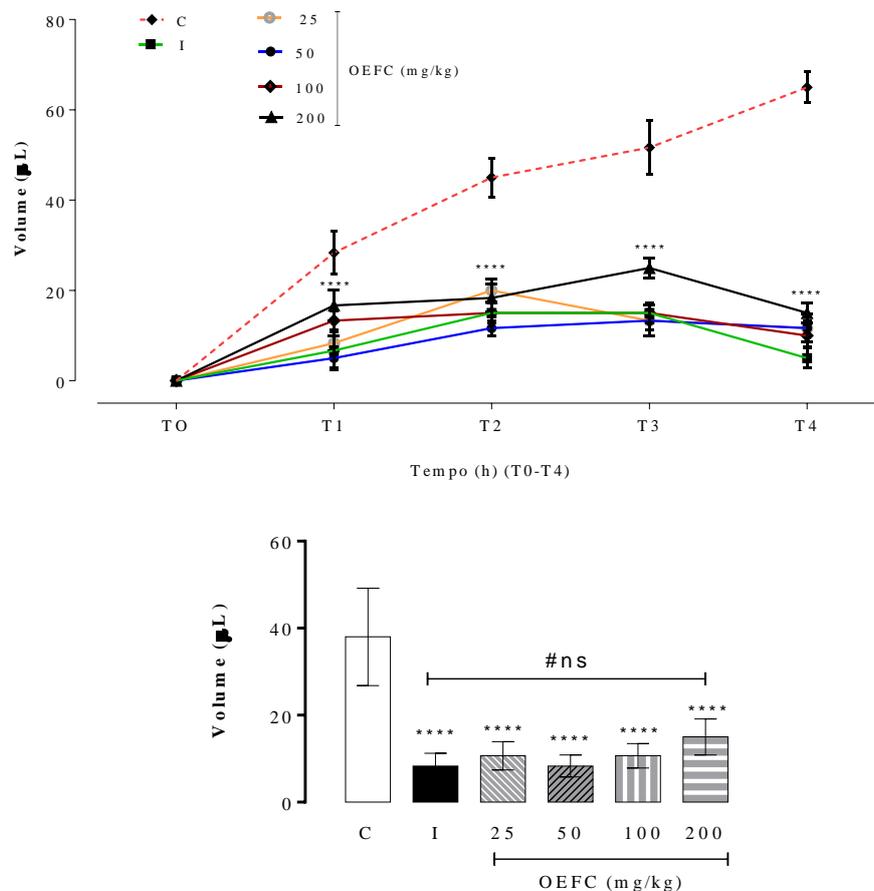
5.4.2 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina 1%

A carragenina é um glicosaminoglicano, considerada, possivelmente, o agente flogístico mais utilizado para testar fármacos anti-inflamatórios, estando tipicamente associada com a ativação da ciclo-oxigenase. Além disso, é considerada um modelo experimental com reprodutibilidade aceitável. A injeção intraplantar induz o aumento agudo e progressivo do volume da pata, sendo o edema proporcional à resposta inflamatória, caracterizada pelo

aumento no volume da pata, infiltrado de células, principalmente neutrófilos, níveis de vários mediadores no exsudato e hiperalgesia a estímulo térmicos e mecânicos (KALE *et al.*, 2007; LAPA *et al.*, 2003; LEME *et al.*, 1973; OMOTE *et al.*, 2001).

A carragenina aumentou o edema de forma significativa em todos os tempos analisados cujo pico edematogênico máximo foi obtido na 4ª hora. O tratamento por via oral com OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg) reduziu significativamente o edema em 71,92; 78,07; 71,92 e 60,52% respectivamente, em relação ao grupo de controle no intervalo analisado da 1ª a 4ª hora. Não houve diferença significativa entre as doses testadas. O OEFC, em todas as doses, reduziu o edema respectivamente em todos os tempos: 25 mg/kg (T1:70,59%; T2: 55,55%; T3: 74,19%; T4:82,06%), 50 mg/kg (T1:82,35%; T2:74,08%; T3:74,19%; T4:82,06%), 100 mg/kg (T1:52,94%; T2: 66,66%; T3: 70,96%; T4:84,61%), e 200 mg/kg (T1:41,19%; T2: 59,26%; T3:51,60%; T4:76,92%) (Figura 12).

Figura 12 - Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos.



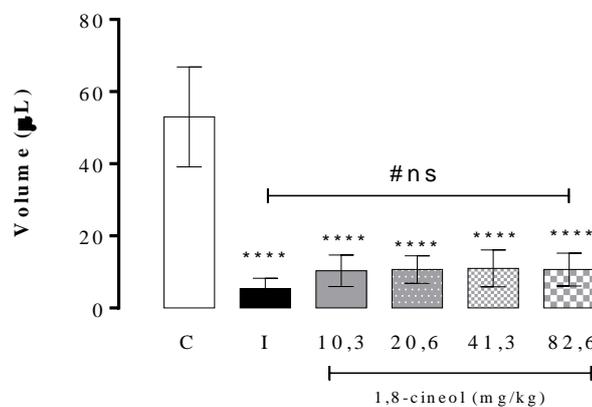
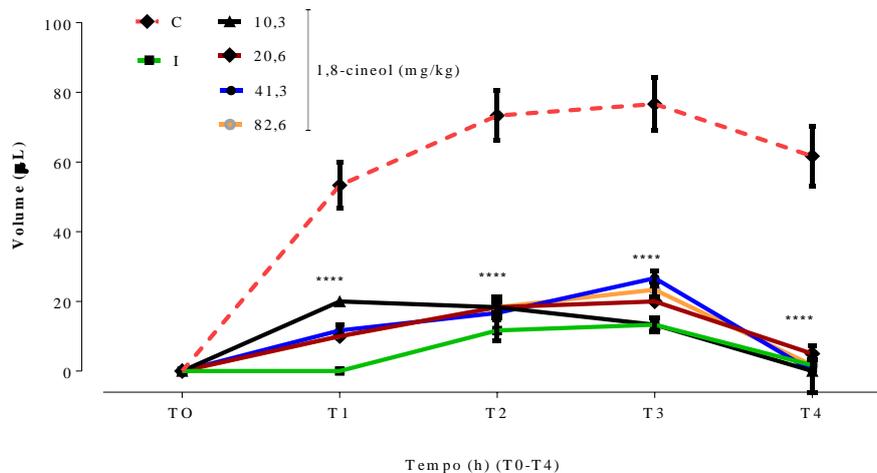
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos até a 4ª hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina- I (10

mg/kg/ s.c.) e OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

A administração oral do 1,8-cineol nas doses (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg) proporcionais às testadas do OEFC reduziu estatisticamente o edema em 80,50; 79,86; 79,24 e 79,86% respectivamente, nos mesmos intervalos de tempo descrito para o OEFC. Com relação ao tempo, o 1,8-cineol demonstrou eficácia ao reduzir o edema em todos os intervalos, de acordo com as doses: 10,3 mg/kg (T1:62,49%; T2: 75%; T3: 82,62%; T4:100%), 20,6 mg/kg (T1:81,24%; T2: 75%; T3: 73,91%; T4:91,89%), 41,3 mg/kg (T1:78,13%; T2: 77,28%; T3: 65,22%; T4:100%), e 82,6 mg/kg (T1:81,24%; T2: 75%; T3: 69,56%; T4:97,30%) (Figura 13). A indometacina, um anti-inflamatório não esteroide, referência por sua ação aguda, reduziu significativamente 78,07% (Figura 12) e 89,94% (Figura 13), demonstrando eficácia durante as quatro horas de avaliação do edema, com maior inibição na 4ª hora.

Figura 13 - Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos.



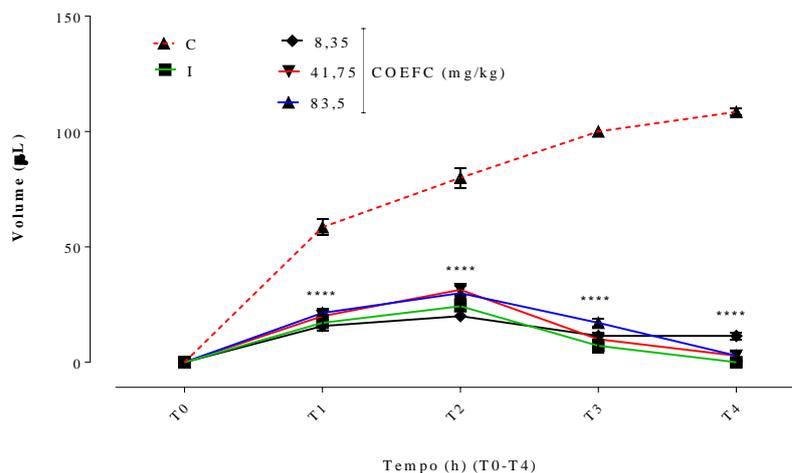
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

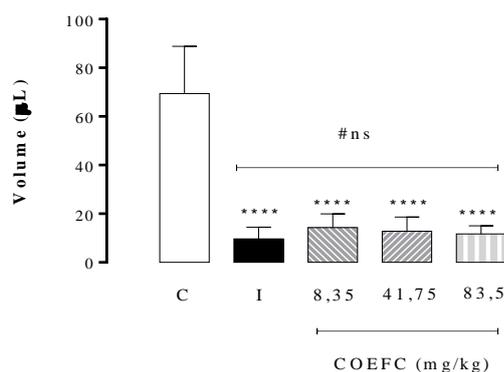
Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos até a 4ª hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina- I (10 mg/kg/ s.c.) e 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett*'s com múltiplas comparações.

O COEFC, nas doses de 8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg por via oral, reduziu significativamente o edema em 83,13; 81,47 e 79,43% respectivamente, entre a 1ª e a 4ª hora. Em relação ao intervalo de tempo, o COEFC diminuiu o edema em todos os tempos na dose de 8,35 mg/kg (T1:73,12%; T2:75%; T3:88,57%; T4:89,47%), 41,75 mg/kg (T1:65,85%; T2:60,71%; T3:90%; T4:97,38%) e 83,5 mg/kg (T1:63,41%; T2:62,50%; T3:82,86%; T4:97,38%) (Figura 14) em relação ao grupo controle.

A indometacina (10 mg/kg) reduziu significativamente o edema em 83,13% quando comparado ao grupo controle, demonstrando ação anti-inflamatória em todos os intervalos de tempo (T1:73,12%; T2:69,63%; 92,86%; T4:100%) (Figura 14). A indometacina inibe a síntese de prostaglandinas, resultando na redução do edema e em consequência do processo inflamatório (HOQUE *et al.*, 2016).

Figura 14 - Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos.





Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de carragenina a 1% em camundongos até a 4ª hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina- I (10 mg/kg/ s.c.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.). Valores representam a média ± E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado agrupo controle. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnett's* com múltiplas comparações.

O edema inflamatório provocado pela carragenina, considerado bifásico, é resultado da interação de vários mediadores inflamatórios. Inicialmente (60 - 90 minutos), ocorre a liberação dos primeiros mediadores, dentre eles: histamina, bradicinina, serotonina, substância P e prostaglandinas (PGs). Após esse período, a síntese de prostaglandinas atinge um pico de até 4 - 6 horas e mantém o edema. Posteriormente (24 - 72 horas), ocorre a liberação de citocinas como IL-1 e TNF- α (HENRIQUES *et al.*, 1986; KALE *et al.*, 2007; LAPA *et al.*, 2003; TORRES, S. R. *et al.*, 2000; WILLIAMS, 1979).

Resultados semelhantes aos nossos foram obtidos com outras espécies do mesmo gênero, dentre elas, o óleo essencial de *Croton zehntneri* (OECZ, 10, 30 e 100 mg/kg/v.o.) (PONTE, DA, 2009) e óleo essencial das folhas de *Croton argyrophyllus* (30 e 100 mg/kg) (RAMOS, J. M. O. *et al.*, 2013) apresentaram efeito anti-inflamatório ao reduzir o edema de pata induzido por carragenina. Santos e Rao (2000) mostraram que a atividade anti-inflamatória do 1,8-cineol, no tratamento por via oral nas doses 100, 200 e 400 mg/kg, agem por meio da inibição de prostaglandinas e citocinas.

Os resultados apresentados não mostram efeito dose-dependente, bem como diferença significativa entre as doses testadas, demonstrando eficácia em todos os tempos de avaliação, porém, o maior percentual de inibição do edema do OEFC, COEFC e 1,8-cineol em todas as doses testadas foi na 4ª hora.

A ação antiedematogênica do OEFC, do COEFC e do 1,8-cineol sobre o edema de pata induzido pela carragenina corrobora com a ação antiedematogênica apresentada no modelo de edema por óleo de cróton, uma vez que a carragenina é um agente flogístico que promove a

liberação de vários mediadores inflamatórios, incluindo aminas vasoativas e prostaglandinas, agindo também na fase aguda da inflamação. É relevante ressaltar que o COEFC (8,35 mg/kg) apresentou percentual de inibição de edema maior que o OEFC (25 mg/kg) na menor dose testada, sugerindo que o complexo de inclusão pode ser considerado uma excelente alternativa na utilização de substâncias com doses menores e efeitos significativos.

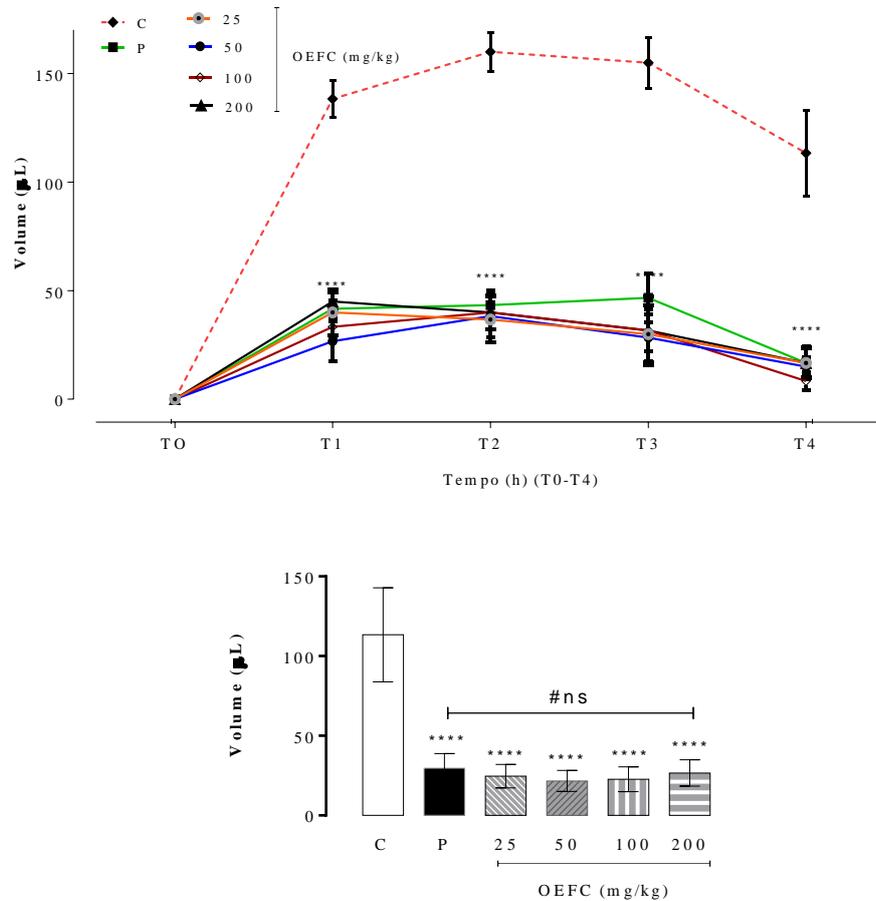
5.4.3 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana 1%

A dextrana é um polissacarídeo de elevado peso molecular, considerado um agente flogístico, que induz uma reação anafilática, promove a degranulação dos mastócitos e, conseqüentemente, leva à liberação da histamina e 5-hidroxitriptamina (serotonina), os quais são mediadores que estão pré-formados nos grânulos dos mastócitos. A histamina é responsável pela indução da dor local, vasodilatação, ativação do sistema complemento e células endoteliais, recrutamento de leucócitos e, por conseguinte, formação de edema. Porém, a serotonina modula a resposta inflamatória por meio de sua ação sobre células do sistema imune e de outros importantes mediadores da inflamação (COURA *et al.*, 2015; MALEKI; NAYEBI; GARJANI, 2005; STULZER *et al.*, 2006). A formação do edema de pata por dextrana é rápida e de efeito intenso com pico edematogênico máximo após 30 minutos, diminuindo gradativamente ao decorrer do tempo (COURA *et al.*, 2015).

A dextrana promove a liberação de mediadores, dentre eles, as aminas vasoativas com ausência de infiltrado, ao contrário da carragenina que induz a liberação de vários mediadores químicos (histamina, serotonina, bradicinina) na fase inicial, e demais, como óxido nítrico, prostaglandinas, interleucina 1 e fator de necrose tumoral, posteriormente, rico em infiltrado celular (KATZ *et al.*, 1984; SALVEMINI *et al.*, 1999).

A dextrana aumentou o edema de forma significativa com pico edematogênico máximo na 2ª hora, contudo, demonstrou declínio no edema a partir da 3ª hora. A administração oral do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg) reduziu estatisticamente em 78,22; 80,87; 79,99 e 76,76% respectivamente, após a indução do edema por dextrana a 1% quando comparado ao grupo controle. Com relação ao intervalo de tempo entre 1ª e 4ª hora, o OEFC em todas as doses reduziu o edema em todos os tempos: 25 mg/kg (T1:71,08 %; T2: 77,08%; T3: 79,57%; T4:85,29%), 50 mg/kg (T1:80,72%; T2:76,04%; T3:81,72%; T4:86,76%), 100 mg/kg (T1:75,90 %; T2: 75%; T3: 79,57%; T4:92,64%), e 200 mg/kg (T1:67,46%; T2: 75%; T3:79,57%; T4: 85,29%) (Figura 15).

Figura 15 - Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos.

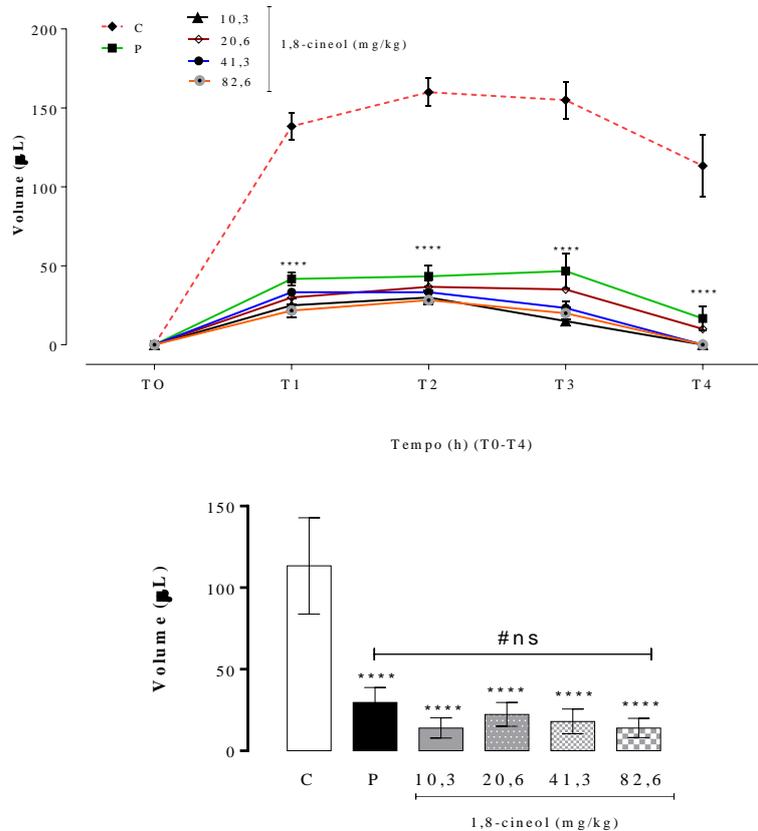


Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos até a 4^o hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), prometazina- P (6 mg/kg/v.o) e OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

O 1,8-cineol nas doses 10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o., proporcionais às doses testadas do OEFC, reduziu o edema em todos os tempos, com percentuais de 87,64; 80,29; 84,11 e 87,64% respectivamente, até a 4^o hora. O 1,8-cineol demonstrou eficácia ao reduzir o edema em todos os intervalos de tempo, de acordo com as doses: 10,3 mg/kg (T1:81,92%; T2: 81,25%; T3: 90,32%; T4:100%), 20,6 mg/kg (T1:78,31%; T2: 77,08%; T3: 77,42%; T4:91,17%), 41,3 mg/kg (T1: 75,90%; T2: 79,16%; T3: 84,94%; T4: 100%), e 82,6 mg/kg (T1:84,34%; T2: 82,29%; T3: 87,09%; T4:100%) (Figura 16).

Figura 16 - Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

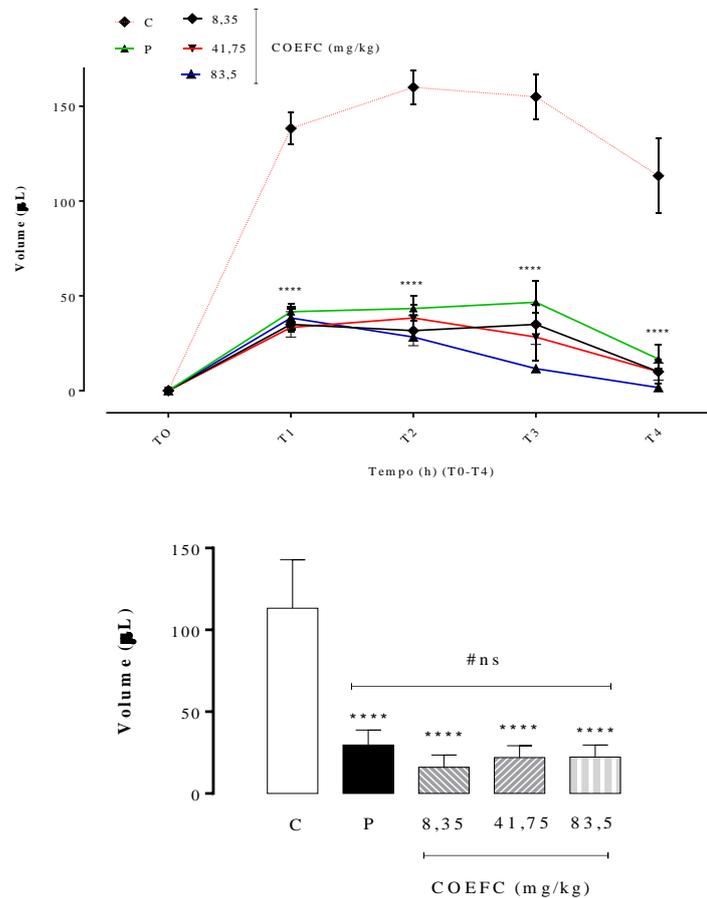
Efeito do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos até a 4^o hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), prometazina- P (6 mg/kg/v.o.) e 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

O tratamento oral com COEFC nas doses 8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg promoveu uma redução significativa do edema em: 80,29; 80,58 e 85,87% respectivamente, quando comparado ao grupo controle, que apresentou pico edematogênico máximo na 2^a hora. Ao correlacionar a ação e o intervalo de tempo, o COEFC, em todas as doses, reduziu em todos os tempos (1^a - 4^a hora): 8,35 mg/kg (T1: 74,69%; T2: 80,21%; T3: 77,41 %; T4: 91,17%), 41,75 mg/kg (T1: 75,90%; T2: 76,04%; T3: 81,72 %; T4: 91,17%) e 83,5 mg/kg (T1: 72,29%; T2: 82,29%; T3: 92,47%; T4: 98,53%), apresentando maior percentual de inibição do edema na 4^a hora. Não houve efeito-dose dependente, uma vez que não houve diferença significativa entre as doses testadas (Figura 17).

A prometazina, utilizada como controle positivo, apresentou efeito antiedematogênico significativo de 73,81% em relação ao grupo controle. Nos intervalos de tempo entre a 1^a - 4^a

hora, a prometazina apresentou ação em todos os tempos (T1: 69,88%; T2: 72,91%; T3: 69,89%; T4: 85,29%) (Figuras 15, 16 e 17).

Figura 17 - Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de dextrana a 1% em camundongos até a 4^o hora. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), prometazina-P (6 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnett's* com múltiplas comparações.

Em estudo relacionado ao gênero *Croton*, o óleo essencial de *Croton argyrophylloides* (100 mg/kg) por via oral apresentou significativa atividade anti edematogênica nos modelos de edema de pata induzido por carragenina, dextrana, serotonina e histamina. Ao avaliar o constituinte majoritário, o β -cariofileno (100 e 300 mg/kg) inibiu de forma significativa o edema induzido por glutamato, dextrana e carragenina, sendo estes resultados associados a uma atividade modulatória sobre a síntese, liberação e/ou ação das aminas vasoativas: serotonina e

histamina, incluindo a possível ação sobre a liberação de bradicinina e interação com a síntese das prostaglandinas (CELEDONIO, 2008).

O OEFC, o 1,8-cineol e o COEFC, em todas as doses, demonstraram efeito antiedematogênico em todos intervalos de tempo quando comparado ao controle, porém, com maior percentual de inibição na 4^a hora, indicando uma possível relevância da presença do 1,8-cineol (constituente majoritário), que também apresentou redução significativa do edema.

O efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC sobre o edema de pata induzido por dextrana corrobora com os ensaios anteriores de edema de orelha induzido por óleo de cróton e edema de pata induzido por carragenina, sugerindo possivelmente que o OEFC, o 1,8-cineol e o COEFC agem na participação da liberação das aminas vasoativas (histamina e serotonina), que são responsáveis por alguns eventos vasculares e celulares na fase aguda da resposta inflamatória. No entanto, destaca-se a importância de elucidar a participação do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC na via histamínica.

5.4.4 Edema de pata induzido pela injeção intraplantar de histamina a 1% e ácido araquidônico a 1%

O edema é um dos principais sinais característicos da inflamação. As prostaglandinas, derivadas do ácido araquidônico, atuam de forma sinérgica com outros mediadores, como as aminas vasoativas (histamina e serotonina) e bradicinina (YANG; TANG; WEI, 2013). A histamina é originada a partir da descarboxilação do aminoácido histidina pela enzima histidina descarboxilase. Essa amina vasoativa é produzida por muitas células, especificamente pelos mastócitos adjacentes aos vasos, pelos basófilos e plaquetas circulantes, e promove alterações vasculares, como a vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, ativação endotelial, desempenhando um papel fundamental no processo inflamatório (KUMAR; ASTER; ABBAS, 2015).

A liberação de histamina está associada à ativação dos mastócitos pelas proteínas do sistema complemento C3a e C5a e por linfócitos que medeiam as alterações vasculares e celulares (BRAND *et al.*, 2002). As ações da histamina são mediadas pelos receptores H₁, H₂, H₃ e H₄ (MARONE; GALLI; KITAMURA, 2002). A fase inicial do edema inflamatório envolve a liberação de mediadores, como as aminas vasoativas: histamina, bradicinina e serotonina, posteriormente seguidas da produção e aumento de prostaglandinas, que facilitam a migração de leucócitos, a produção de outros mediadores e espécies reativas de oxigênio,

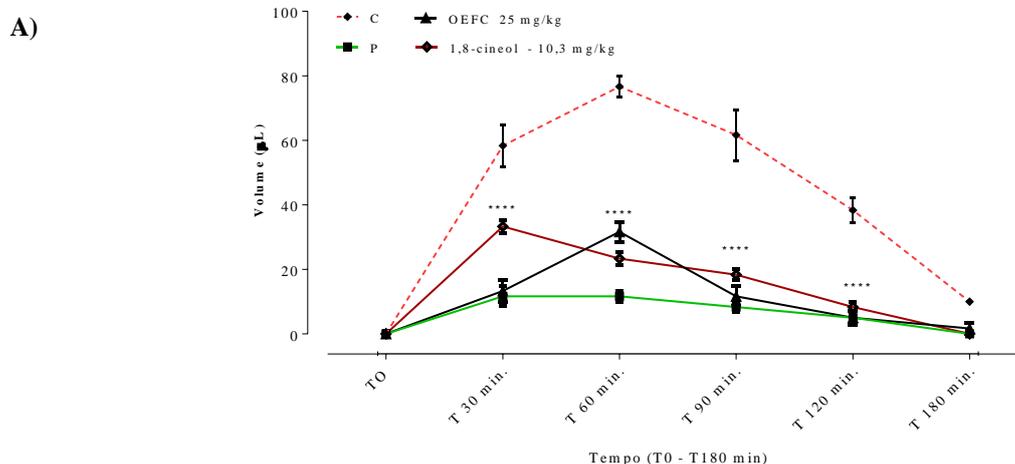
aumento da atividade da enzima mieloperoxidase e óxido nítrico (FANTONE; WARD, 1982; LO; ALMEIDA; BEAVEN, 1982; NANTEL *et al.*, 1999; POSADAS *et al.*, 2004).

O edema induzido pela histamina aumentou significativamente no grupo controle até 120 minutos, com pico edematogênico máximo em 60 minutos, porém, demonstrou término da sua ação em 180 minutos. A prometazina (6 mg/kg/v.o.), anti-histamínico utilizado como controle positivo, reduziu o edema em 85,02% quando comparado ao controle, demonstrando eficácia nos intervalos de tempo de 30 a 120 minutos (T30: 80,01%; T60: 84,78%; T90: 86,49%; T120: 86,95%), tendo efeito máximo nos tempos de 90 e 120 minutos (Figura 18 A/B).

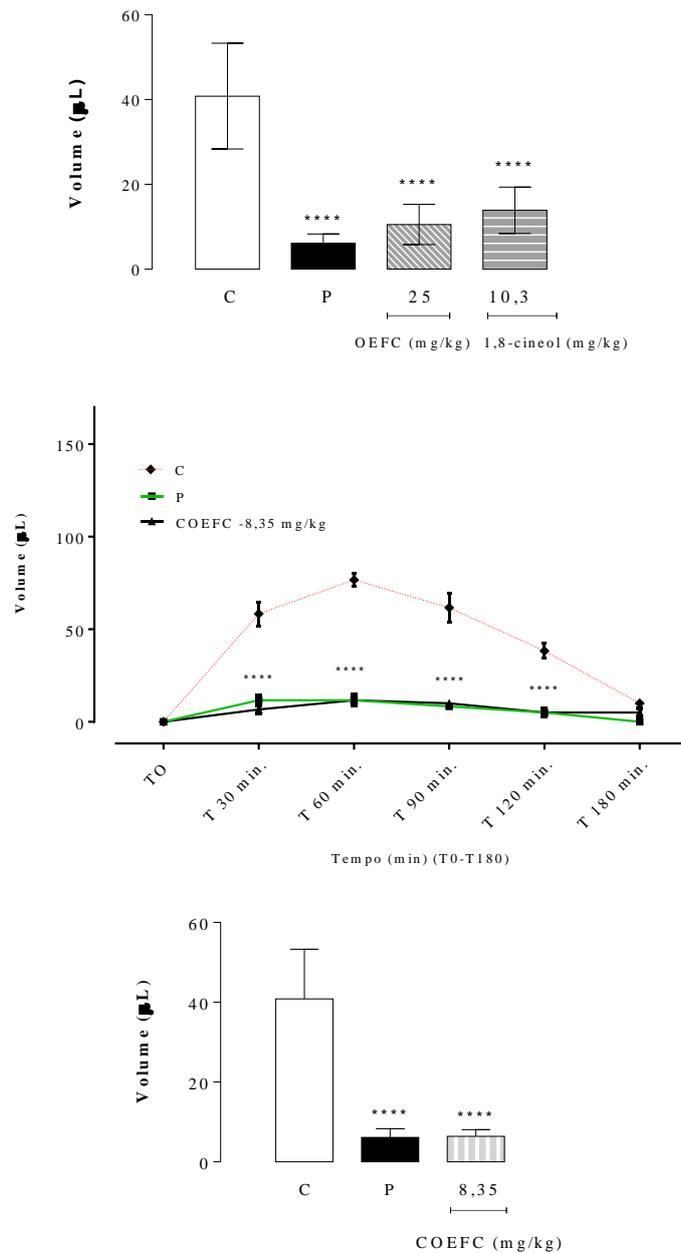
O tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.) reduziu significativamente o edema em 74,11% quando comparado ao controle, sendo significativo após 30, 60, 90, 120 minutos da indução (T30: 77,14%; T60: 58,70%; T90: 81,08%; T120: 86,95%) (Figura 18 A). O constituinte majoritário 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) apresentou efeito antiedematogênico ao reduzir o edema em 65,95%, apresentando ação em todos os tempos (T30: 42,85%; T60: 69,56%; T90: 70,27%; T120: 78,26%) (Figura 18 A).

O COEFC, na dose de 8,35 mg/kg, apresentou efeito antiedematogênico de 84,37% e a prometazina de 85,03%, quando comparado ao grupo controle (Figura 18B). Em relação ao intervalo de tempo, o COEFC apresentou em efeito em todos os tempos (T30: 88,58%; T60: 84,78%; T90: 83,78%; T120: 86,95%; T180: 50%), demonstrando melhor percentual de inibição em 30 minutos (T30) de ação da histamina. O anti-histamínico, prometazina, apresentou ação em todos os intervalos de tempo (T30: 80,01%; T60: 84,78%; T90: 86,49%; T120: 86,95%; T180: 100%), todavia, teve melhor efetividade em 180 minutos (T180) após a indução do edema (Figura 18 A/B).

Figura 18 - Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de histamina a 1% em camundongos.



B)



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de histamina a 1% em camundongos até 180 min. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), prometazina-P (6 mg/kg/ v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

O edema de pata induzido por ácido araquidônico ocorre devido à oxidação desse fosfolípido de membrana por enzimas como a ciclooxigenase e lipooxigenase e por radicais livres, como o peróxido de hidrogênio. O produto dessa oxidação são mediadores químicos, como, por exemplo, prostaglandinas e leucotrienos, que são responsáveis pelo aumento da permeabilidade, migração e ativação de leucócitos (ASTUDILLO *et al.*, 2012; CHEN, 2011).

O ácido araquidônico provoca edema significativo após 30 minutos e com pico até 75 minutos após a injeção intraplantar em ratos (CARAMORI; ADCOCK, 2005; TSURUMI *et al.*, 1986), podendo seu efeito ser bloqueado por meio de inibidores direto do metabolismo do ácido araquidônico e corticosteroides (DIMARTINO *et al.*, 1987).

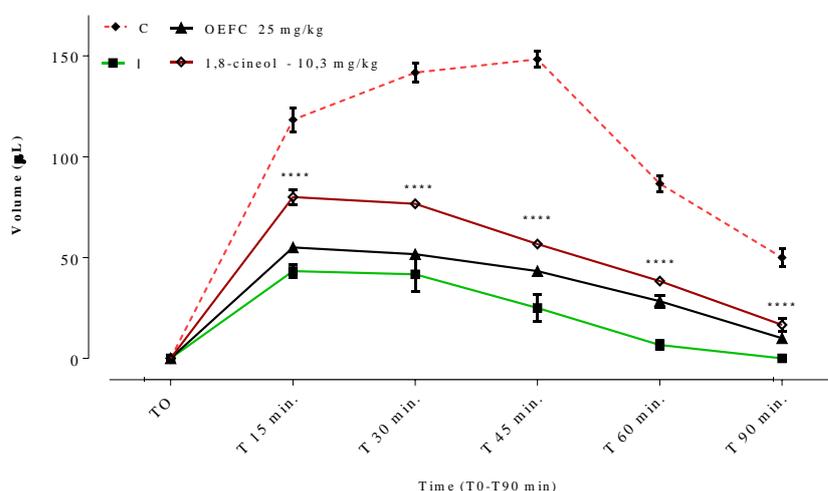
No edema de pata induzido por AA, o OEFC (25 mg/kg/v.o.) reduziu o edema de forma significativa em 64,44% quando comparado ao grupo controle, com eficácia em todos os tempos (T15: 53,51%; T30: 63,53%; T45: 70,78%; T60: 67,31%; T90: 80%). O 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) reduziu o edema em 50,76% quando comparado ao controle, demonstrando ser significativo em todos os intervalos de tempo (T15: 32,39%; T30: 45,88%; T45: 61,80%; T60:55,76%; T90:66,68%) (Figura 19A).

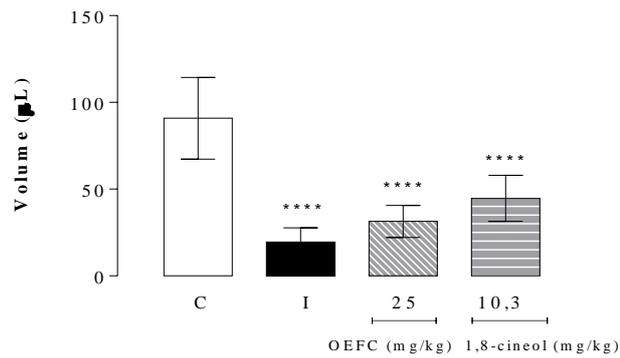
O grupo controle negativo atingiu o pico edematogênico máximo em 45 minutos (T45) e permaneceu até 90 minutos; apesar disso, sua ação teve declínio a partir dos 60 minutos. A indometacina demonstrou eficácia ao inibir o edema em 78,60% em relação ao grupo controle, nos intervalos de tempo entre 15 e 90 minutos após a administração do agente flogístico, tendo efeito máximo em 90 minutos (T15: 63,38%; T30: 70,59%; T45: 83,14%; T60: 92,31%; T90: 100%) (Figura 19 A/B).

O COEFC (8,35 mg/kg) reduziu significativamente o edema de pata induzido por AA em 60,56% e a indometacina (10 mg/kg) em 78,59% quando comparado ao grupo controle, que teve pico máximo de ação em 45 minutos. Em relação ao intervalo de tempo, o COEFC (T15: 50,69%; T30: 50,60%; T45: 67,41%; T60: 69,22%; T90: 96,68%) e a indometacina (T15: 63,37%; T30: 70,59%; T45: 83,14%; T60: 92,31%; T90: 100%) foram eficazes em todos os tempos.

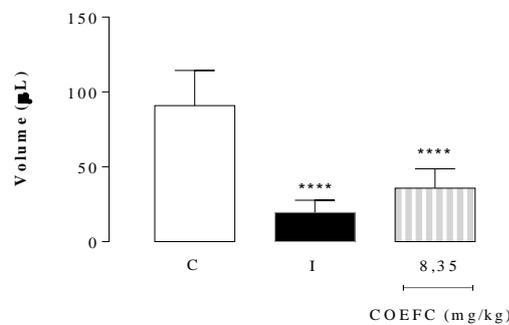
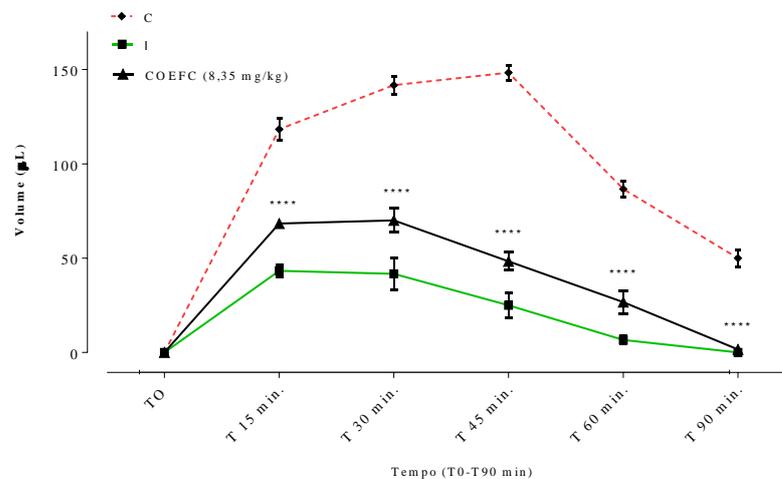
Figura 19 - Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de ácido araquidônico a 1% em camundongos.

A)





B)



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B) sobre o edema de pata induzido pela injeção intraplantar de ácido araquidônico a 1% em camundongos até 90 min. Grupos: controle - C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina-I (10 mg/kg/ s.c.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) (A) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) (B). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

Em relação ao constituinte majoritário, o 1,8-cineol promoveu ação antiedematogênica induzida por composto 48/80, cujo mecanismo de ação está associado à degranulação de mastócitos e liberação de histamina (SANTSO, RAO, 1997), dado este que ratificam os nossos

resultados, uma vez que o OEFC, o 1,8-cineol e o COEFC apresentaram ação antiedematogênica pela via histamínica.

O efeito antiedematogênico do OEFC, do 1,8-cineol e do COEFC sobre o metabolismo do ácido araquidônico e a via histamínica corrobora com a ação antiedematogênica apresentada nos edemas de pata induzido por carragenina e dextrana, o que, de fato, confirma a participação da ação sobre as aminas vasoativas e prostaglandinas, revelando o potencial sobre os sinais da fase aguda da inflamação.

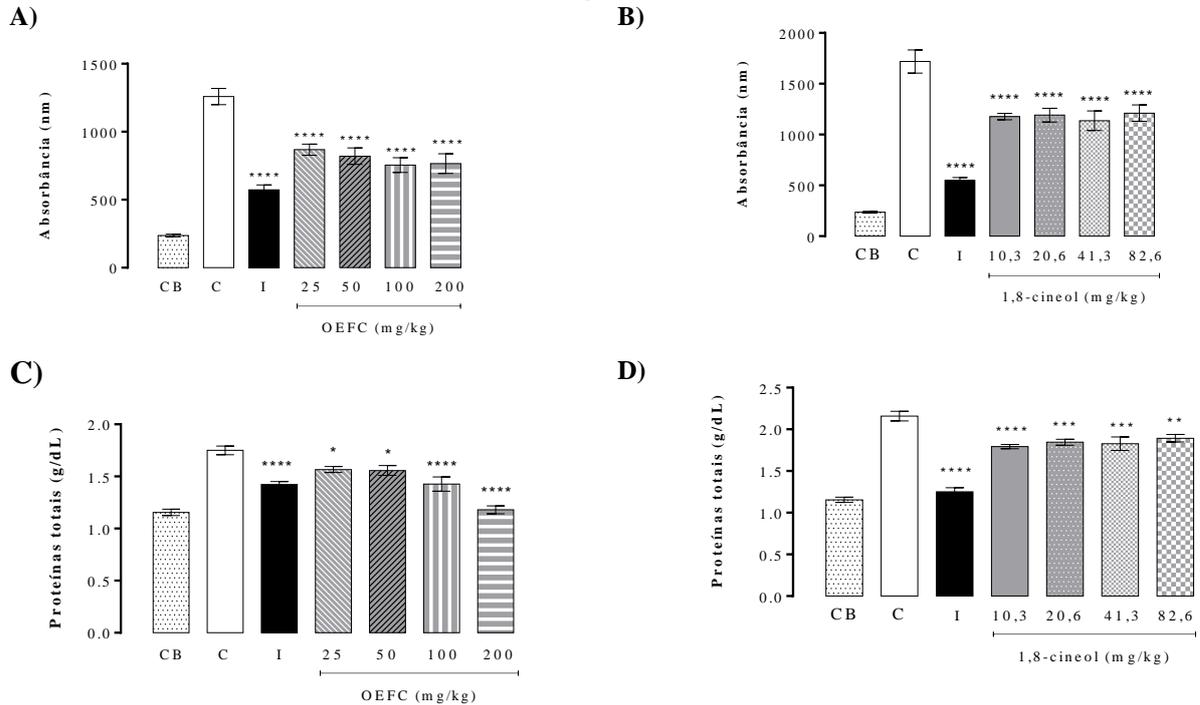
5.4.5 Efeito anti-inflamatório do OEFC, 1,8-cineol e COEFC

5.4.5.1 Permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans*

A carragenina é considerada um estímulo químico que induz a liberação de mediadores químicos (histamina, citocinas e produtos do ácido araquidônico), promovendo o aumento da permeabilidade vascular, ou seja, a retração de células endoteliais que provoca o extravasamento de proteínas do plasma até o espaço intersticial. O aumento da permeabilidade é considerado umas das principais características do processo inflamatório agudo caracterizado pela alteração vascular, exsudato e migração de leucócitos (LAPA *et al.*, 2003). Foi mensurado por colorimetria utilizando o corante azul de *Evans*, aplicado para determinação do extravasamento proteico, podendo este corante ligar-se 0,99% à albumina no plasma (BATES, 2010; CORR *et al.*, 2012; IYER *et al.*, 2006; LAPA *et al.*, 2003; SARIA; LUNDBERG, 1983).

No ensaio de permeabilidade vascular, o OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) reduziu a permeabilidade vascular em 31,03; 34,80; 40,01 e 39,21% respectivamente (Figura 20A), o constituinte majoritário 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) em 31,52; 30,71; 33,91 e 29,56% respectivamente (Figura 20B) e o complexo de inclusão do óleo essencial (COEFC) nas doses de 8,35; 41,75 e 83,5 (mg/kg) reduziu a permeabilidade, respectivamente, em 29,46; 22,10; 23,16%, quando comparado ao grupo controle (Figura 20A). A indometacina (10 mg/kg/s.c.), anti-inflamatório não esteroide, reduziu significativamente a permeabilidade vascular apresentando inibição significativa de 54,46% (Figura 20A e 21A) e 68,09% (Figura 20B) respectivamente, em relação a permeabilidade vascular.

Figura 20 - Ação do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* (A/B) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (C/D).

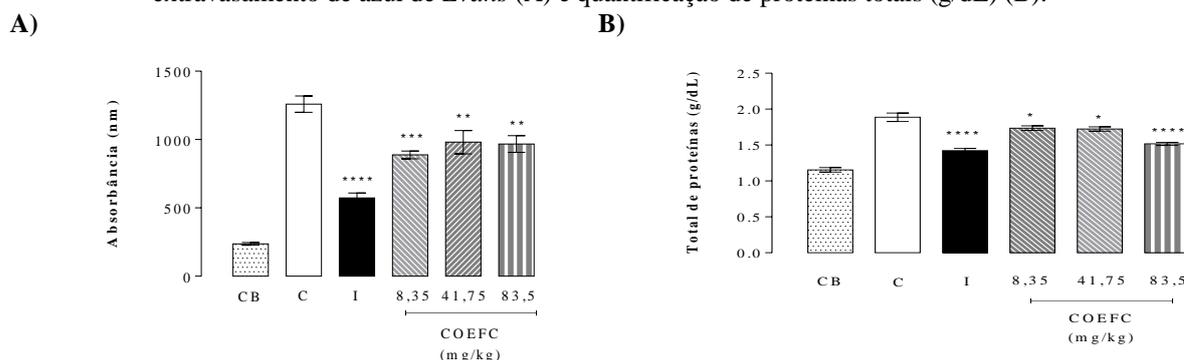


Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Ação do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* (A/B) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (C/D). Grupos: controle-C (0,1 mL/10g/v.o.), controle basal-CB (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina-I (10 mg/kg/s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

A respeito da dosagem do extravasamento proteico, ou seja, a quantidade de proteínas extravasadas, o OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) reduziu estatisticamente o nível de proteínas no lavado peritoneal em 10,85; 11,43; 18,85 e 32,57% respectivamente (Figura 18C), o 1,8-cineol (10,3; 20,6; 41,3 e 82,6 mg/kg/v.o.) em 16,75; 14,42; 15,34 e 12,01% (Figura 18D) e o COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) em 7,97; 8,51; 19,56% (Figura 19B) quando comparado ao controle. A indometacina (10 mg/kg/s.c.) reduziu 18,25% (Figura 20C), 41,86% (Figura 20D) e 24,46% (Figura 21B), respectivamente, o nível de proteínas totais.

Figura 21 - Ação do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* (A) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (B).



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Ação do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) com relação à permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans* (A) e quantificação de proteínas totais (g/dL) (B). Grupos: controle-C (0,1 mL/10g/v.o.), controle basal-CB (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina-I (10 mg/kg/ s.c.) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo, *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

No tocante à complexação de óleos essenciais, estudo realizado por Rodrigues *et al.* (2017) avaliou a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *Ocimum basilicum* complexado em β -CD (OEOB/ β -CD) e verificou a redução do edema por carragenina, dextrana, histamina e AA, da permeabilidade vascular e do extravasamento de leucócitos para o local da lesão, com efeito mais significativo em doses menores do que o óleo isolado (RODRIGUES *et al.*, 2017). Frisamos ainda que o β -CD tem demonstrado aumentar a biodisponibilidade de drogas analgésicas e anti-inflamatórias e igualmente melhorar sua eficácia, o que colabora com nossos dados (L SANTOS *et al.*, 2017).

A ação anti-inflamatória do OEFC, 1,8-cineol e COEFC, ao reduzir o aumento da permeabilidade vascular e o extravasamento proteico, sugere uma redução eficiente na formação ou produção do exsudato inflamatório e corrobora com a ação de ambos inibirem a ação dos mediadores inflamatórios no edema de pata induzido por carragenina, dextrana, histamina e AA, diferindo-se apenas na localização do estímulo inflamatório.

Salientando que não houve diferença significativa entre o controle basal (não recebeu agente indutor) e OEFC (200 mg/kg/v.o.) / COEFC (83,5 mg/kg/v.o.), sugerindo que ambos apresentam excelente efeito anti-inflamatório, uma vez que apresentam valores semelhantes a um grupo que não recebeu agente indutor do processo inflamatório.

No que concerne a complexação, a menor dose efetiva do COEFC (8,35 mg/kg) obteve efeito significativo tão quanto a menor dose do OEFC (25 mg/kg) isolado. Portanto, esses dados justificam uma possível melhor biodisponibilidade de óleos essenciais complexados com β -CD.

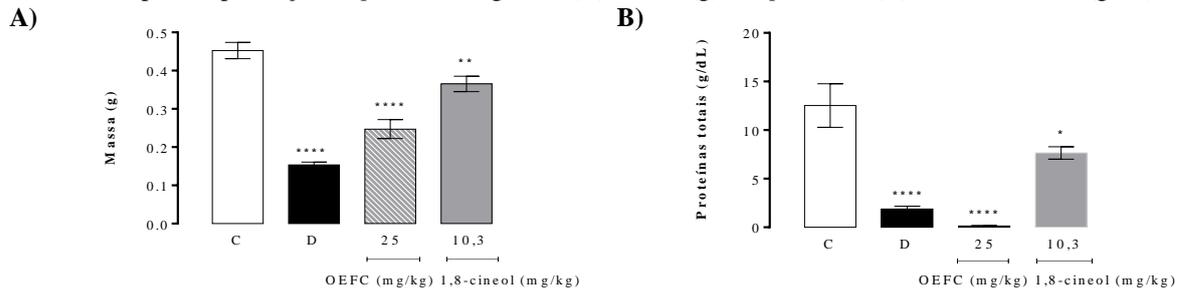
5.4.5.2 Lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão

A inflamação crônica apresenta uma característica definida de granulomatosa com presença de células multinucleadas, borda de fibroblastos e tecido conjuntivo. A presença de um corpo estranho estimula a formação do granuloma, ocorrendo a migração de células do sistema mononuclear macrofágico que induzem a formação da matriz celular ao redor do corpo estranho com intuito de limpeza e eliminação. As citocinas inflamatórias e imunomoduladoras são liberadas em função da atividade macrocitária. O estímulo provoca a migração de células imunes, endoteliais e fibroblastos, determinando os efeitos proliferativos do tecido granulomatoso constituído de macrófagos, fibroblastos e matriz extracelular (KUMAR, V.; ASTER; ABBAS, 2015).

A manutenção do processo inflamatório induzido por patógenos persistentes, corpos estranhos e desregulação imune, desencadeia uma resposta crônica tardia e mais específica, que promove a expressão gênica de células mononucleares para produção de citocinas. Estas células ampliam a produção em massa desses mediadores anti-inflamatórias, como, por exemplo, interleucinas, TNF- α e TGF- β , induzindo, ao mesmo tempo, a resposta inflamatória agressiva e a resposta proliferativa de reparo a partir do recrutamento de fibroblastos. Isto possibilita a formação de granulomas crônicos (AFONINA *et al.*, 2017).

No que se refere à massa seca dos *pellets* de algodão, a dexametasona (5 mg/kg/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) causaram redução significativa de 66,66; 46,66 e 20%, respectivamente, do tecido granulomatoso (Figura 22A). Em observação macroscópica, notou-se que o grupo controle apresentou intensa quantidade de tecido no granuloma formado (tecido granulomatoso), angiogênese e exsudato, os quais não foram observados com relevância significativa nos grupos tratados. Os grupos OEFC, 1,8-cineol e dexametasona reduziram significativamente em 98,88; 38,89 e 85,06%, respectivamente, a quantidade de proteínas presentes no granuloma em relação ao grupo controle (Figura 22B).

Figura 22 - Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão. (A) Massa (g) dos *pellets*; e (B) Proteínas totais (g/dL).

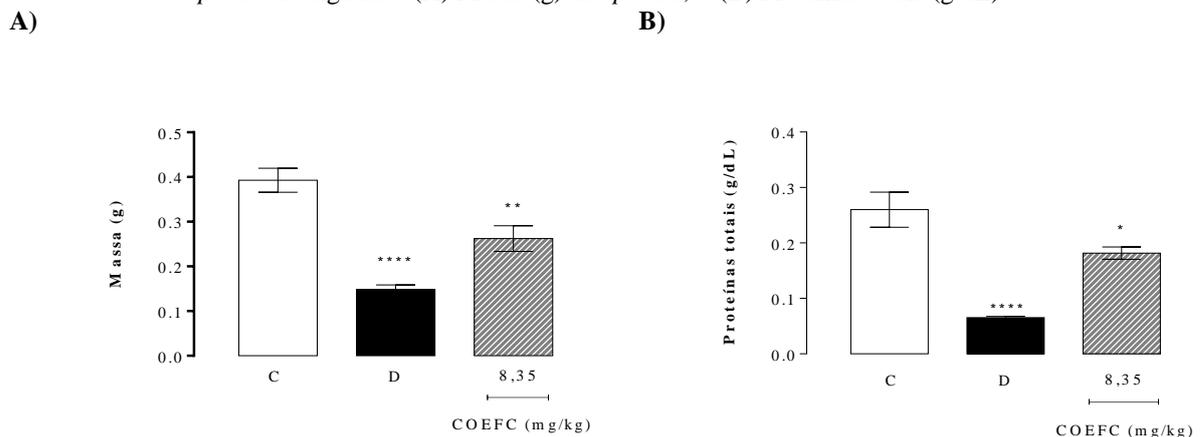


Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão. (A) Massa (g) dos *pellets*; e (B) Proteínas totais (g/dL). Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), dexametasona- D (5 mg/kg/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.) e 1,8-cineol (10,3 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: * $p < 0,05$; *** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

O COEFC (8,35 mg/kg) e a dexametasona (5 mg/kg) reduziram de forma significativa em 33,16 e 62,50%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 23A) em relação à massa dos *pellets*. Esses dados contribuem com a dosagem de proteínas totais presentes na lesão, uma vez que o tratamento com o COEFC na dose de 8,35 mg/kg reduziu em 30,38% e a dexametasona em 76,92% (Figura 23B).

Figura 23 – Efeito do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão. (A) Massa (g) dos *pellets*; e (B) Proteínas totais (g/dL).



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) sobre a lesão granulomatosa induzida pela implantação de *pellets* de algodão. (A) Massa (g) dos *pellets*; e (B) Proteínas totais (g/dL). Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), dexametasona- D (5 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

A dexametasona é um anti-inflamatório considerado potente por apresentar efeitos terapêuticos em pequenas doses (TORRES; INSUELA; FARIAS CARVALHO, 2012). Os glicocorticoides são fármacos bastante utilizados no mundo, apresentando eficácia no tratamento de várias doenças autoimunes e inflamatórias crônicas, como asma, dermatites, artrite reumatoide e câncer (BOSSCHER; HAEGEMAN; ELEWAUT, 2010).

Alguns estudos relacionados ao gênero, como a pesquisa realizada por Nogueira (2014), afirmam que o óleo essencial das folhas de *Croton cordifolius* Baill apresentou efeito anti-inflamatório através do modelo de granuloma induzido por *pellets* de algodão. Bighetti e colaboradores (1999) trazem que o óleo essencial das cascas de *Croton cajucara* Benth nas doses de 50, 100 e 200 (mg/kg/via oral) demonstraram atividade anti-inflamatória aguda (edema de pata por carragenina/infiltrado celular) e crônica (granuloma induzido por *pellets* de algodão).

O 1,8-cineol exibe um efeito inibitório em alguns ensaios experimentais em ratos envolvendo a atividade anti-inflamatória, como edema de pata induzido por carragenina e granuloma induzido por *pellets* de algodão (SANTOS; RAO; OTHERS, 2000). O efeito anti-inflamatório exibido pelo 1,8-cineol colabora com o presente estudo, uma vez que em nossos achados o 1,8-cineol, em doses proporcionais ao OEFC, também reduziu significativamente a massa granulomatosa e a quantidade de proteínas. Pesquisas recentes comprovam atividades farmacológicas de óleos essenciais complexados com ciclodextrina: *Ocimum basilicum* (NASCIMENTO; ARAÚJO *et al.*, 2014; RODRIGUES *et al.*, 2017), *Lippia grata* (SIQUEIRA-LIMA *et al.*, 2017) e *Hyptis martiusii* (ANDRADE *et al.*, 2017); e monoterpenos isolados: (-)-linalool (GUIMARÃES; QUINTANS; QUINTANS-JÚNIOR, 2013; QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2013) e carvacrol (BARRETO *et al.*, 2014).

No modelo de lesão granulomatosa, o OEFC, 1,8-cineol e COEFC demonstraram efeito anti-inflamatório ao reduzir a massa dos *pellets* de algodão, bem como a diminuição da quantidade de proteínas totais, sugerindo uma possível inibição da atividade ou da proliferação de macrófagos e fibroblastos na produção de tecido fibroso e corroborando com os resultados apresentados nos modelos de edema de pata induzido por diferentes agentes flogísticos e permeabilidade vascular, dado que nos modelos estudados os agentes flogísticos favorecem alterações vasculares e celulares (vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, fluxo sanguíneo e infiltrado celular), podendo inibir o exsudato característico da inflamação aguda e a atividade proliferativa da inflamação subcrônica.

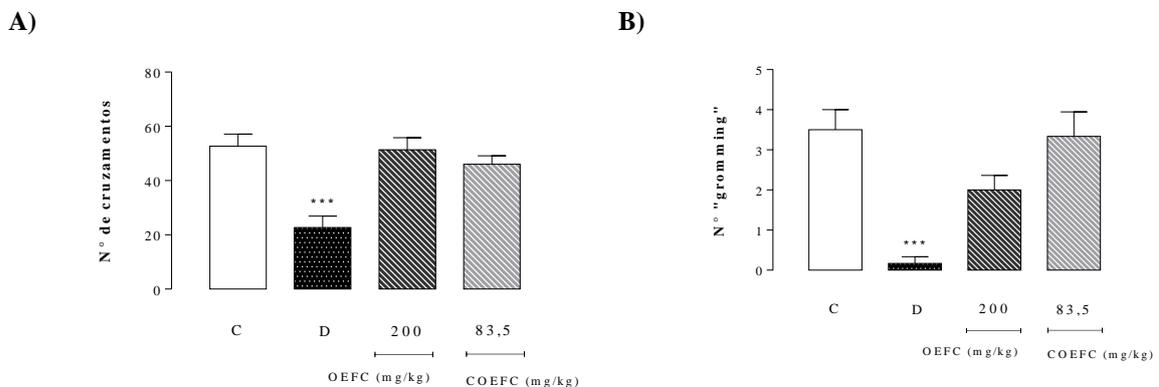
5.5 Efeito do OEFC e do COEFC sobre o Sistema Nervoso Central (SNC)

5.5.1 Campo aberto

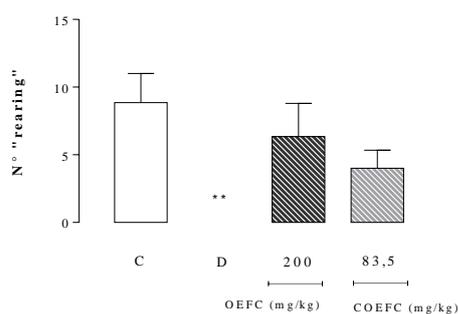
O método de campo aberto permite avaliar a atividade exploratória através da observação do número de cruzamentos “*gromming*” e “*rearing*”, realizados pelos animais no campo aberto durante o período de 5 minutos em uma caixa de vidro, madeira ou acrílico (30 x 30 x 15cm) com nove secções (tamanho igual) marcadas na sua base de cor preta. Este modelo permite avaliar o efeito estimulante ou depressor de uma determinada substância. A tendência natural do animal é explorar o ambiente novo, porém, existe o confronto da hipótese do medo provocado ao enfrentar o ambiente diferente (ARCHER, 1973; LAPA *et al.*, 2003).

O tratamento por via oral com OEFC (200 mg/kg) e COEFC (83,5 mg/kg) não causou alteração no número de cruzamentos (exploração horizontal) com percentual de 87,33 e 97,39%, respectivamente (Figura 24A). Com relação ao “*gromming*” (comportamento de autolimpeza), o percentual foi de 95,14 e 57,14% (Figura 24B) e “*rearing*” (comportamento de exploração vertical) em 45,19 e 71,52% (Figura 24C), respectivamente, quando comparados ao grupo controle. O diazepam (5 mg/kg/i.p.) apresentou redução significativa do número de cruzamentos em 56,95%, “*gromming*” de 95,42% e “*rearing*” em 98,19%, quando comparado ao grupo controle. O diazepam é um ansiolítico que promove a incoordenação motora e sedação (TALAREK *et al.*, 2010).

Figura 24 - Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de cruzamentos (A) “*gromming*” (B) e “*rearing*” (C) no teste de campo aberto.



C)



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de cruzamentos (A) “*gromming*” (B) e “*rearing*” (C) no teste de campo aberto. Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), diazepam- D (5 mg/kg/ i.p.), OEFC (200 mg/kg/v.o.) e COEFC (83,5 mg/kg/v.o.). Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

Estudos realizados com espécies pertencentes ao gênero *Croton*: *Croton cordiifolius* *Bail.1* (NOGUEIRA, 2014), *Croton sonderianus* *Muell. Arg.* (AMARAL, 2004) e *Croton urucurana* (200 e 400 mg/kg) (GURGEL, 2005) complementam os resultados do nosso trabalho por não alterarem a locomoção motora e comportamentos no campo aberto.

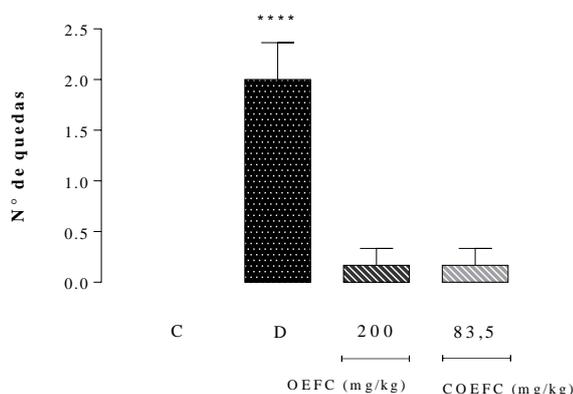
No modelo de campo aberto, o tratamento com o OEFC e com o COEFC não causou alterações no número de cruzamentos, e nos comportamentos de autolimpeza e exploração vertical, demonstrando que o OEFC e COEFC não promovem a atividade depressora sobre o SNC, uma vez que esta ação poderia influenciar de forma direta no efeito antinociceptivo.

5.5.2 “*Rota-rod*”

O teste “*rota-rod*” é um método que permite avaliar a especificidade da ação nociceptiva, verificando se os tratamentos com fármacos causam incoordenação motora nos animais, seja por sedação ou relaxamento muscular, através do registro do número de quedas no período estabelecido (LAPA *et al.*, 2003; ROSLAND; HUNSKAAR; HOLE, 1990). É considerado um método clássico para esta finalidade (BOGO; HILL; YOUNG, 1981), sendo amplamente utilizado nas pesquisas (RUSTAY; WAHLSTEN; CRABBE, 2003). A coordenação motora consiste em uma qualidade física que depende da integração do sistema musculoesquelético com o SNC, logo, o efeito antinociceptivo pode sofrer influência direta da coordenação motora (GURGEL, 2005).

O tratamento via oral do OEFC (200 mg/kg) e COEFC (83,5 mg/kg) não apresentou diferença significativa em relação ao controle (Figura 25). No entanto, provavelmente o discreto efeito miorelaxante do OEFC e COEFC (8%) não interferiu na capacidade motora dos animais.

Figura 25 - Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de quedas no “Rota-rod.”.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (83,5 mg/kg/v.o.) sobre o número de quedas no “Rota-rod.” Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), diazepam- D (5mg/kg/ i.p.), OEFC (200 mg/kg/v.o.) e COEFC (83,5 mg/kg/v.o.). Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo, ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnett’s* com múltiplas comparações.

O diazepam (5 mg/kg/i.p.) aumentou significativamente o número de quedas quando comparado ao grupo controle, demonstrando efetividade na sua ação, alterando a coordenação motora dos animais, apresentando efetividade na sua ação. De acordo com Talarek *et al.* (2010), o diazepam altera a coordenação motora dos animais.

Com relação à outra espécie do gênero, as espécies de *Croton sonderianus* (SANTOS, F. A. *et al.*, 2005) e *Croton urucurana* (GURGEL, 2005), quando avaliadas em relação ao efeito no SNC, não alteraram a coordenação motora no *rota-rod*.

O OEFC e COEFC não alteraram a coordenação motora dos animais no modelo de *rota-rod*, resultados estes que contribuem com a ação do OEFC e do COEFC no campo aberto, em que ambos não alteraram o número de cruzamentos “*gromming*” e “*rearing*”. Assim, os dados sugerem que o OEFC e COEFC não causam efeito sedativo, o que poderia vir a mascarar a resposta nociceptiva.

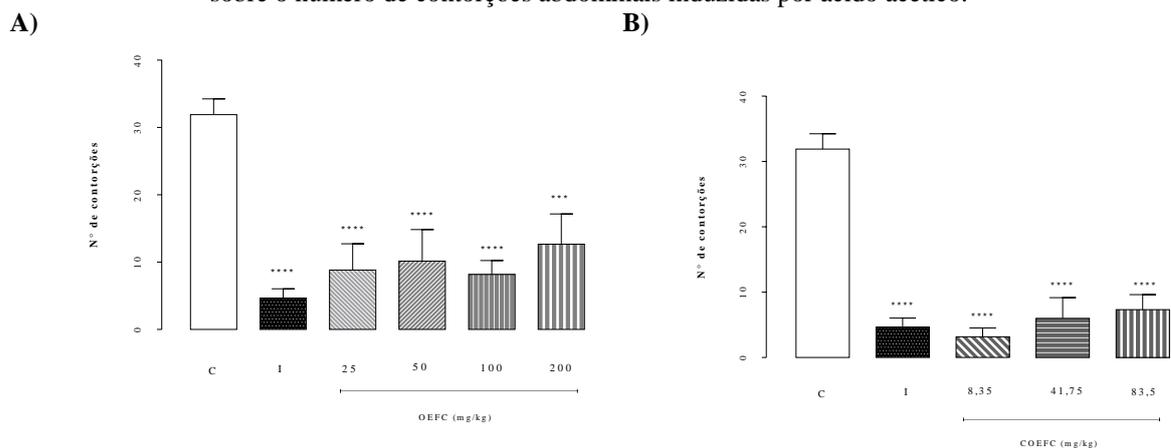
5.6 Efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC

5.6.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

O ensaio de contorções abdominais é caracterizado a partir da aplicação de um estímulo químico nociceptivo, ou seja, que favoreça a dor por via intraperitoneal, tendo como resposta motora a contração e rotação do abdômen, seguido da extensão de uma ou ambas as patas traseiras. As contorções são contabilizadas durante um intervalo de tempo, cuja intensidade da sua resposta depende da interação de vários eventos neurotransmissores e neuromoduladores (KOSTER, 1959; LAPA *et al.*, 2003). O modelo de contorções abdominais é utilizado como parâmetro de avaliação do efeito central e periférico, posto que o ácido acético induz sensibilidade à dor através da liberação de substâncias derivadas de mastócitos e macrófagos, ocorrendo também a sensibilização das terminações sensoriais aferentes periféricas (RIBEIRO *et al.*, 2000).

O OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg) reduziu significativamente o número de contorções abdominais em 72,33; 68,13; 74,43 e 60,3%, respectivamente (Figura 26A), e o COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg) em 90,1; 81,2 e 77,03% (Figura 26B) quando comparado ao grupo controle. A indometacina (10 mg/kg) (anti-inflamatório) apresentou redução significativa de 85,40% (Figura 26A/B).

Figura 26 - Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético. Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina-I (10mg/ kg / s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/ kg/v.o.) (A) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/ kg/v.o.) (B). Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo:

*** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnet's* com múltiplas comparações.

O ácido acético provoca o aumento de prostaglandinas (PGE_2 e $PGF_{2\alpha}$) na cavidade peritoneal (DERAEDT *et al.*, 1980) e dor inflamatória (AMICO-ROXAS *et al.*, 1984), além de uma irritação local através da injeção intraperitoneal, favorecendo a liberação de mediadores, dentre eles: substância P, bradicinina, prostaglandinas, e citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6, IL-8 e TNF- α) (COUTO *et al.*, 2011).

Os fármacos anti-inflamatórios como, por exemplo, a indometacina, inibem a ciclo-oxigenase em tecidos periféricos e modificam o mecanismo de transdução de nociceptores do aferente primário (DANIEL *et al.*, 2009).

O constituinte majoritário da espécie em estudo, o 1,8-cineol, apresentou efeito antinociceptivo ao reduzir o número de contorções abdominais (SANTOS; RAO, 2000). Estudos recentes com espécies pertencentes ao gênero *Croton* demonstram ação antinociceptiva: *Croton argyrophylloides* (CELEDONIO, 2008), *Croton sonderianus* (AMARAL, 2004), *Croton urucurana* (CORDEIRO, K. W. *et al.*, 2016), *Croton guatemalensis* Lotsy (CARMEN; DEL *et al.*, 2016) e *Croton crassifolius* (ZHAO *et al.*, 2012).

O tratamento com o OEFC e COEFC causaram efeito antinociceptivo ao reduzir o número de contorções abdominais. No entanto, o COEFC apresentou ação mais significativa do que o OEFC isolado, quando avaliado em relação ao número de contorções. Este dado sugere que doses menores de complexos de inclusão apresentam resultados mais significativos, demonstrando ser uma nova alternativa terapêutica e reforçam os estudos mais atuais (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2013; QUINTANS *et al.*, 2013) que afirmam resultados mais expressivos do efeito antinociceptivo de complexos de inclusão em relação à óleos essenciais e monoterpenos isolados.

5.6.2 Teste da formalina a 2,5%

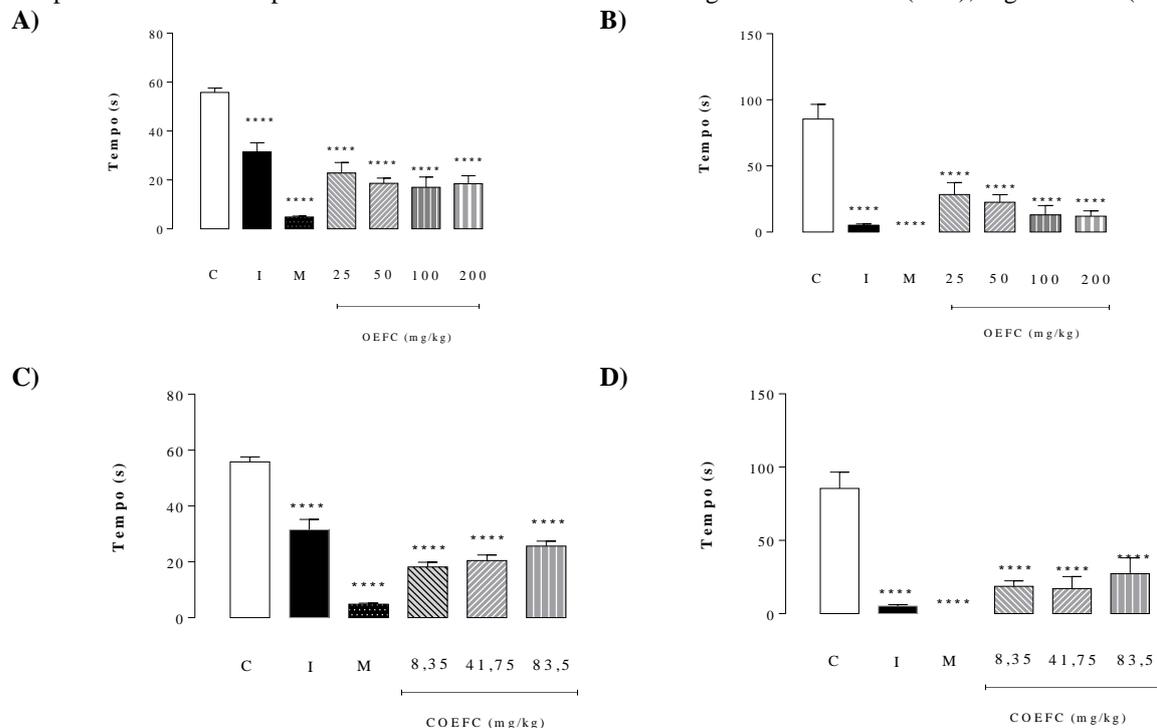
O teste de nociceção induzido pela formalina é considerado um método de eficácia, confiabilidade e sensibilidade a diversas substâncias analgésicas, apresentando duas fases de mecanismos de nociceção distintos. A primeira fase (0 - 5 minutos), caracterizada de dor neurogênica e associada à estimulação química direta dos nociceptores das fibras aferentes do tipo C e A δ (em parte), tem relação com a liberação de aminoácidos excitatórios, substância P, óxido nítrico e outros. A segunda fase (15 - 30 minutos) é definida como dor inflamatória,

período este que ocorre a liberação de vários mediadores pró-inflamatórios, dentre eles as prostaglandinas (PGs), bradicinina, histamina e serotonina (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Na primeira fase (neurogênica/0 - 5 minutos), o tratamento por via oral com OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg) reduziu significativamente o tempo de lambertura da pata injetada com formalina, quando comparado ao controle, em 59,1; 66,55; 69,55 e 66,86%, respectivamente (Figura 27A), e o COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) em 67,45; 63,28 e 54,02%, respectivamente (Figura 27C). A indometacina (10 mg/kg) e a morfina (5 mg/kg), ambas por via subcutânea, reduziram significativamente em 43,57 e 91,34%, respectivamente (Figura 27 A/C).

Com relação à segunda fase (inflamatória/15 - 30 minutos), o OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) produziu uma considerável redução de 66,86; 73,68; 84,79 e 85,96%, respectivamente (Figura 27B), e o COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) em 78,16; 79,91 e 68,03%, respectivamente (Figura 27D). Os controles positivos, ambos administrados por via subcutânea, a morfina (5 mg/kg) e a indometacina (10 mg/kg), foram capazes de diminuir de maneira expressiva em 100 e 93,96%, respectivamente (Figura 27 B/D), o tempo de lambertura da pata quando comparado ao controle.

Figura 27- Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o tempo de lambertura da pata no teste da formalina em camundongos. Primeira fase (A/C); segunda fase (B/D).



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) sobre o tempo de lambadura da pata no teste da formalina em camundongos. Primeira fase (A/C); segunda fase (B/D). Grupos: controle- C (0,1 mL/10g/v.o.), indometacina- I (10 mg/kg/ s.c.), morfina- M (5 mg/kg/ s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/ kg/v.o.) (A/B) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (C/D). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais.). Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnett's* com múltiplas comparações.

A morfina é um agonista dos receptores opioides, considerado um analgésico clássico e muito potente que age inibindo a resposta a estímulos dolorosos (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Conforme citado anteriormente, a indometacina é um anti-inflamatório que inibe a síntese prostaglandinas, responsáveis pelo desencadeamento da dor inflamatória caracterizada por hiperalgesia (LAPA *et al.*, 2003).

O constituinte majoritário da espécie em estudo, o 1,8-cineol, apresentou atividade antinociceptiva ao inibir de forma relevante o tempo de resposta (lamber a pata) em ambas as fases (SANTOS; RAO; OTHERS, 2000). Com relação ao gênero, alguns estudos corroboram o efeito antinociceptivo demonstrado no nosso estudo, como as espécies de *Croton adamantinus* Müll. Arg. (XIMENES *et al.*, 2013), *Croton cordifolius* Baill. (NOGUEIRA *et al.*, 2015), *Croton zehntneri* (OLIVEIRA *et al.*, 2001) e o óleo essencial das folhas de *Croton sonderianus* (SANTOS *et al.*, 2005).

Na primeira e na segunda fase do teste de formalina, o tratamento com OEFC e COEFC, em todas as doses, apresentou efeito antinociceptivo; não obstante, não houve diferença significativa entre as doses testadas. O efeito pode estar possivelmente associado à presença do 1,8-cineol, que apresenta atividade antinociceptiva comprovada na literatura. É importante ressaltar que o efeito antinociceptivo do OEFC e COEFC do teste de formalina contribui com a ação no ensaio de contorções abdominais, inclusive em relação ao efeito mais expressivo do COEFC na sua menor dose em relação ao OEFC isolado. O efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC entre os ensaios de contorções abdominais e teste de formalina se diferem apenas do local e do estímulo químico.

5.6.3 Placa quente

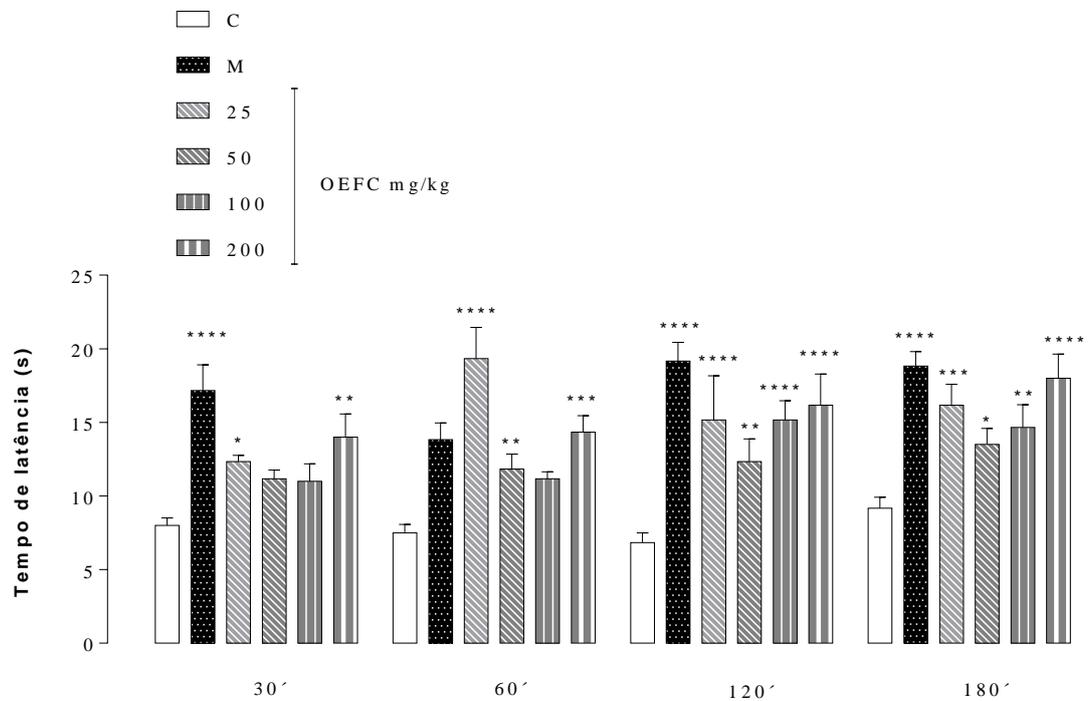
O teste de placa quente consiste na colocação do animal sobre uma superfície aquecida de temperatura (52 - 54°C \pm 0,5°C), sendo a intensidade da resposta nociceptiva ao estímulo térmico associada ao tempo de latência (em segundos) (LAPA *et al.*, 2003) e de levantar ou lamber as patas (TITA *et al.*, 2001). O teste de placa quente tem por objetivo avaliar o efeito analgésico de algumas substâncias por mecanismos centrais, utilizando-se na avaliação de

fármacos opioides, entre outras, com efeito central como os sedativos e hipnóticos (ALGHAMDI, 2001; HIRUMA-LIMA *et al.*, 2000).

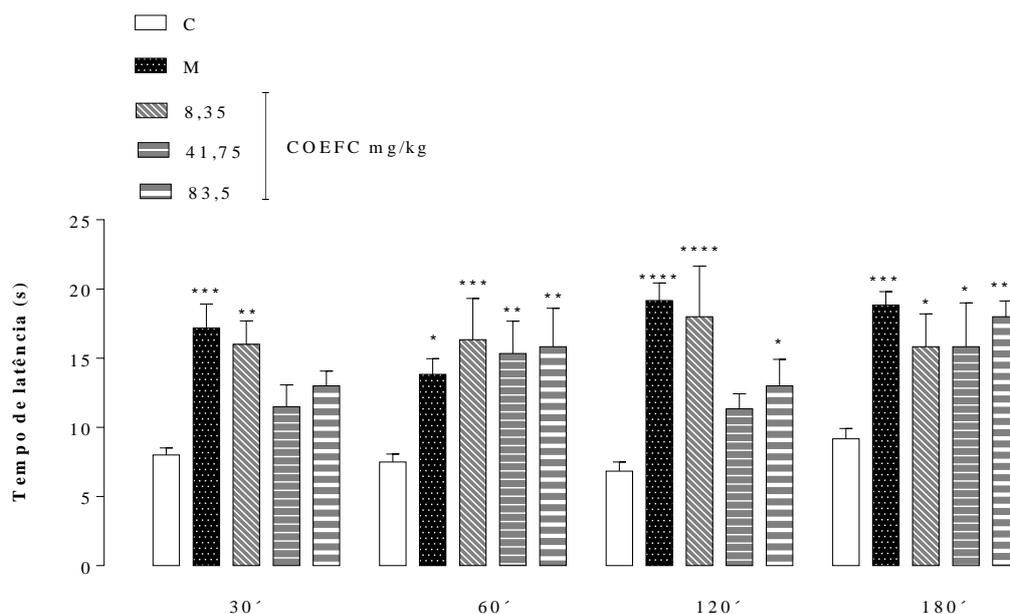
No teste de placa quente, o tratamento com o OEFC por via oral nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg aumentou o tempo de permanência na placa em 88,51; 47,65; 58,51 e 88,25%, respectivamente (Figura 28A) e com o COEFC nas doses de 8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg em 92,16; 68,27 e 79,5%, respectivamente (Figura 28B) quando comparado ao grupo controle no intervalo de tempo de 30 até 180 minutos. A morfina (5 mg/kg/s.c.), utilizada como controle positivo, aumentou o tempo de latência na placa em 92,16% (Figura 28 A/B).

Figura 28 - Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o tempo de latência na placa quente.

A)



B)



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Efeito do OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e do COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/kg/v.o.) (B) sobre o tempo de latência na placa quente. Grupos: controle- C (10 mg/kg/v.o.), morfina- M (6 mg/kg/ s.c.), OEFC (25, 50, 100 e 200 mg/kg/v.o.) (A) e COEFC (8,35; 41,75 e 83,5 mg/ kg/v.o.) (B). Valores representam a média \pm E.P.M. (n=6/grupo). Sendo: *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001; ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Dunnnett's* com múltiplas comparações.

Estudo realizado por Liapi e colaboradores (2007) descrevem a ação antinociceptiva do 1,8-cineol nos modelos de placa quente (*hot plate*) e retirada de cauda (*tail flick*). Com relação às pesquisas envolvendo a atividade antinociceptiva e o gênero, algumas espécies têm efeitos comprovados na literatura: *Croton zehntneri* (OLIVEIRA *et al.*, 2001), *Croton nepetaefolius* (ABDON *et al.*, 2002) e *Croton cajucara* (BIGHETTI *et al.*, 1999).

O efeito antinociceptivo de ação central do OEFC e do COEFC no teste de placa quente em todas as doses testadas corrobora com o efeito do OEFC e do COEFC no ensaio de contorções abdominais e no teste de formalina, principalmente na primeira fase da formalina, sugerindo que o OEFC e o COEFC apresentam atividade antinociceptiva de ação central. Contudo, mesmo com ação antinociceptiva comprovada, é importante investigar as vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e do COEFC a partir dos seguintes sistemas: opioide, colinérgico, glutamatérgico, adenosinérgico, vanilóide, dopaminérgico, dos receptores $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgico, das vias serotoninérgica e da via do óxido nítrico).

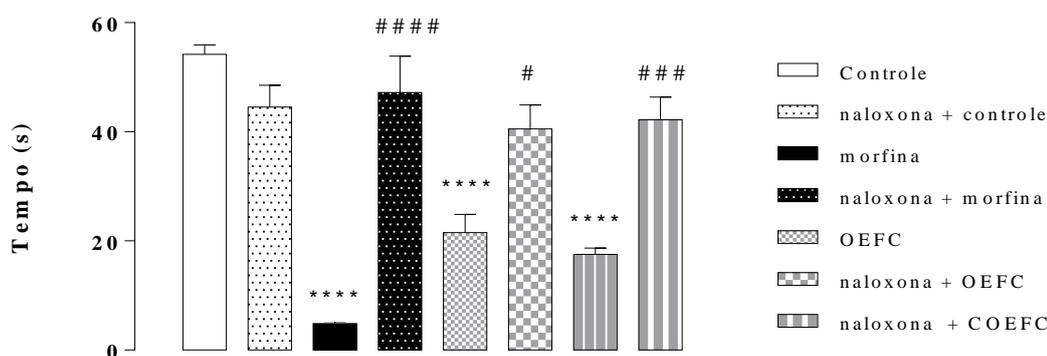
5.6.4 Vias de sinalização da dor envolvidas na resposta antinociceptiva do OEFC e do COEFC (opioide, colinérgica, $\alpha 1$ e $\alpha 2$ adrenérgica, serotoninérgica, óxido nítrico, adenosinérgica, dopaminérgica, glutamatérgica e vanilóide)

O sistema opioide apresenta ação analgésica através dos receptores *mu*, *delta* e *kappa* (GAVÉRIAUX-RUFF, 2013) acoplados à proteína G, que agem inibindo os canais de Ca^{2+} , bloqueando a fosforilação das proteínas, reduzindo a liberação de neurotransmissores excitatórios, ativando os canais de K^+ e, conseqüentemente, diminuindo o estímulo nociceptivo (SCHUMACHER; BASBAUM; WAY, 2012). A morfina é um agonista dos receptores opioides μ , inibindo os estímulos dolorosos (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015). Apesar disso, a naloxona (antagonista) promove o bloqueio dos receptores opioides (VALE, DO, 2000) favorecendo a resposta dolorosa.

Em relação à participação no sistema opioide, o tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e morfina (agonista opioide) reduziu expressivamente o tempo de lambertura da pata injetada com formalina quando comparado ao controle em 60,3; 67,69 e 91,08%, respectivamente, demonstrando uma ação antinociceptiva; porém, quando os animais foram tratados com naloxona (antagonista opioide) previamente (15 minutos), ocorreu uma reversão do efeito antinociceptivo de OEFC, COEFC e morfina, comprovando que a ação envolve o sistema opioide (Figura 29).

Os dados apresentados contribuem com resultados anteriores do teste de formalina e placa quente, em que se verificou a ação antinociceptiva central do OEFC e do COEFC. Assim, podemos sugerir que tanto o OEFC como o COEFC podem ativar os receptores opioides, agindo como agonista do sistema opioide.

Figura 29 - Envolvimento do sistema opioide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

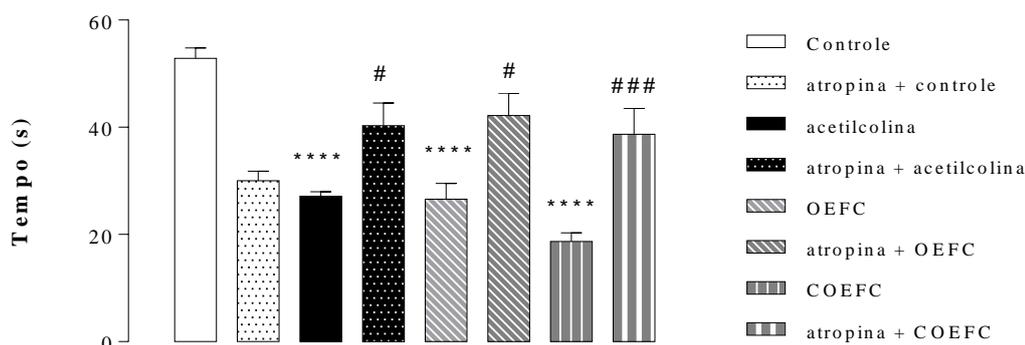
Envolvimento do sistema opioide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o., morfina (5 mg/kg/ s.c.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e administração prévia com naloxona (4 mg/kg i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; #p<0,05, #####p<0,0001, ###p<0,001 quando comparado antagonista + agonista vs agonista. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

No sistema colinérgico, a acetilcolina (agonista) atua através dos receptores muscarínicos M₁, M₃ e M₅ acoplados a proteínas Gq e, nos M₂ e M₄, à proteína Gi, diminuindo o influxo de Ca²⁺ e a liberação de mediadores excitatórios, favorecendo a ativação dos canais de K⁺, induzindo a hiperpolarização e, conseqüentemente, favorecendo o efeito antinociceptivo (HILAL-DANDAN; BRUNTON, 2015).

Na investigação do sistema colinérgico, o pré-tratamento com atropina (antagonista não seletivo), 15 minutos antes da administração de OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e acetilcolina (agonista colinérgico), reverteu a ação antinociceptiva de ambos os grupos tratados. O OEFC (25 mg/kg/v.o.), o COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e a acetilcolina demonstraram redução significativa do tempo de lambadura da pata injetada com formalina em 49,75; 64,6 e 48,6%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 30).

Os dados apresentados na Figura 30 sugerem que o OEFC e o COEFC podem agir também como um provável agonista de receptores muscarínicos acoplados à proteína Gq/Gi, visto que sua ação antinociceptiva sofre reversão na presença do antagonista.

Figura 30 – Envolvimento do sistema colinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento do sistema colinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e acetilcolina (1 mg/kg/ i.p.) e administração prévia com atropina (1 mg/kg/ i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: ****p<0,0001 quando comparado com o controle negativo; #p<0,05, ###p<0,001 quando comparado

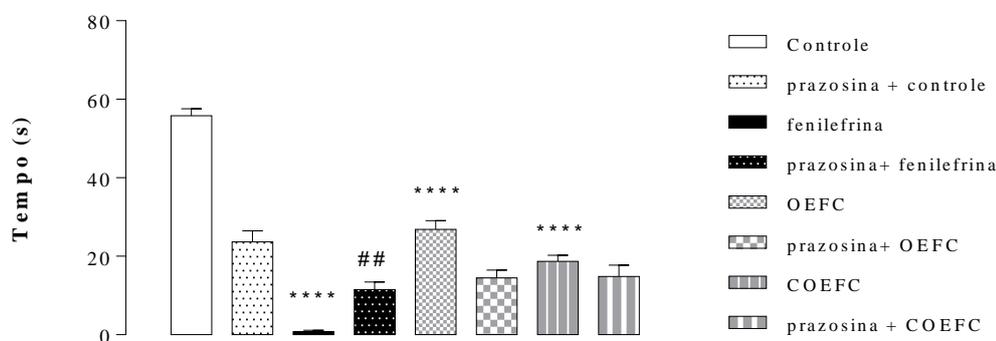
antagonista + agonista vs agonista Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

A ativação dos receptores α -1 adrenérgicos apresentam efeitos antinociceptivos (KAUCHI, 2012), agindo consideravelmente na analgesia adrenérgica no teste de formalina (TASKER; CONNELL; YOLE, 1992), enquanto o antagonista – prazosina - reduz esses efeitos (OTSUKA *et al.*, 2001), promovendo estímulo doloroso.

Na Figura 31, em relação à participação envolvendo os receptores α -1 adrenérgicos, o tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e fenilefrina (agonista α 1) promoveu efeito antinociceptivo ao reduzir significativamente o tempo de lambadura da pata injetada com formalina a 2,5% na primeira fase, quando comparado ao grupo controle em 51,94; 66,48 e 98,65%, respectivamente.

O tratamento prévio com o antagonista do receptor α 1-adrenérgico (prazosina) não reverteu o efeito antinociceptivo do OEFC e COEFC, entretanto, demonstrou efetividade ao reverter a ação da fenilefrina.

Figura 31 - Envolvimento do receptor α -1 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

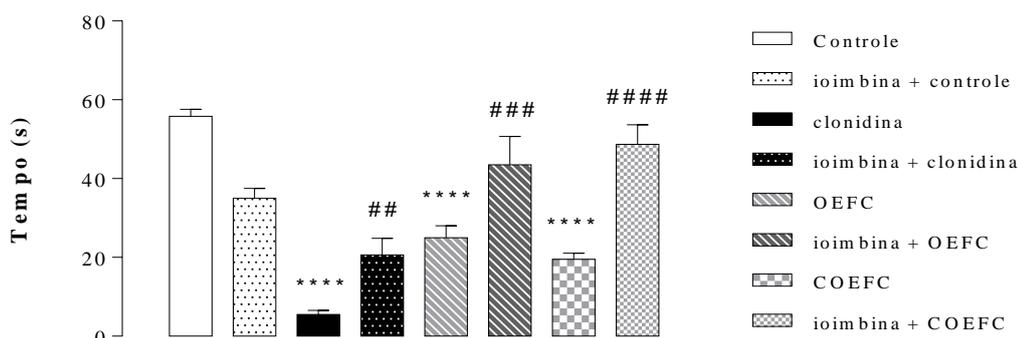
Envolvimento do receptor α -1 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), fenilefrina (agonista α 1; 10 mg/kg i.p.) e administração prévia com prazosina (0,15mg/kg i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: **** p <0,0001 quando comparado com o controle; ## p <0,01 quando comparado ao antagonista + agonista vs agonista. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

A via α 2-adrenérgica age por meio dos receptores α 2 que estão ligados a uma proteína G (Gi) que, ao serem ativados, inibe a adenilciclase, reduz o nível de AMPc intracelular (VALE, DO, 2000) e bloqueia o influxo de Ca^{2+} , promovendo a ativação dos canais de K^+ e, consequentemente, inibindo a transmissão da dor (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998).

Com relação ao receptor α -2 adrenérgico, o pré-tratamento com ioimbina (antagonista α -2), 15 minutos antes da administração de OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e clonidina (agonista α 2), reverteu a ação antinociceptiva de ambos. O OEFC, o COEFC e a clonidina apresentaram redução expressiva do tempo de lambertura da pata injetada com formalina em 55,22; 65,07 e 90,14%, respectivamente, quando comparado ao grupo controle (Figura 32).

Diante dos resultados apresentados, a reversão da ação antinociceptiva do OEFC e do COEFC, promovida pela ioimbina, demonstra uma ação semelhante quando associada ao agonista do receptor α -2 adrenérgico (clonidina), o que colabora para uma possível ação agonista de OEFC e COEFC sobre os receptores α 2-adrenérgicos. Desse modo, podemos sugerir que o OEFC e o COEFC atuam na ativação dos receptores α 2-adrenérgicos, porém, não atuam em receptores α 1-adrenérgicos.

Figura 32 – Envolvimento do receptor α -2 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

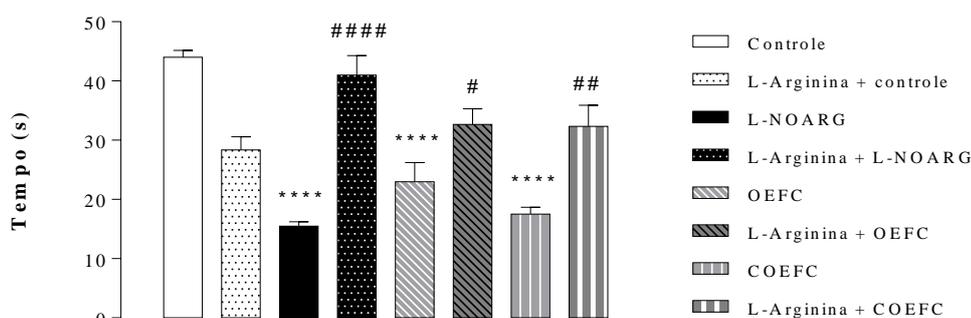
Envolvimento do receptor α -2 adrenérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.), clonidina (0,1 mg/kg i.p.) e administração prévia com ioimbina-I (0,15 mg/kg i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; ##p<0,01; ###p<0,001; ####p<0,0001 quando comparado ao antagonista + agonista vs agonista. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de Tukey's com múltiplas comparações.

O óxido nítrico é um mediador indireto da resposta inflamatória que auxilia nos eventos vasculares e celulares. Portanto, uma vez que ocorre a inibição da iNOS (Óxido Nítrico Sintase Indutiva), que reduz a produção desse mediador e, possivelmente, minimiza os efeitos inflamatórios, consequentemente também diminui a resposta indireta a dor (SHIH *et al.*, 2017).

Na Figura 33, observamos a participação da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc, em que o pré-tratamento com L-arginina (substrato da NOS), 15 minutos antes do OEFC (25 mg/kg/v.o.), do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e do L-NOARG (inibidor do Óxido Nítrico Sintase - NOS), reverteu o efeito antinociceptivo. O OEFC, o COEFC e o L-NOARG reduziram o tempo de lambadura da pata injetada com formalina em 47,72; 60,22 e 64,77%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle.

O efeito antinociceptivo do OEFC e COEFC envolve participação na via da L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc, uma vez que o OEFC e COEFC tiveram sua atividade antinociceptiva revertida pela ação da L-arginina, substrato que promove a liberação e produção de óxido nítrico e consequentemente, o estímulo doloroso.

Figura 33 – Envolvimento da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

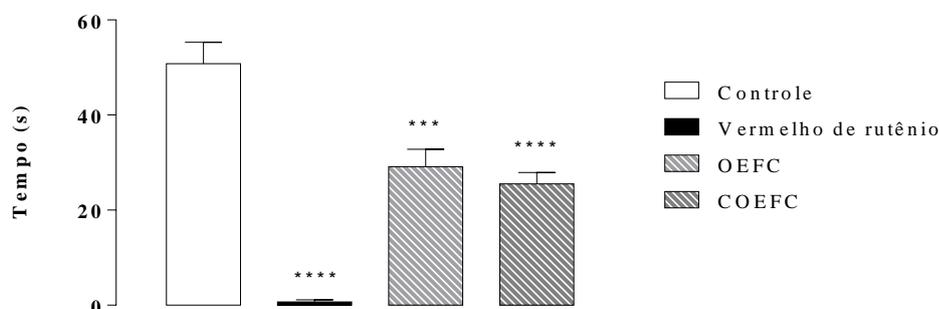
Envolvimento da via L-arginina/Óxido Nítrico/GMPc na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e L-NOARG (75 mg/kg, i.p.) e a administração prévia com L-Arginina (600 mg/kg i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle. # $p < 0,05$; ## $p < 0,01$; #### $p < 0,0001$ quando comparado ao antagonista + agonista vs agonista. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de Tukey's com múltiplas comparações.

Na Figura 34, o tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e o vermelho de rutênio (antagonista TRP não seletivo) reduziu significativamente o tempo de lambadura da pata injetada com capsaicina em 42,61; 49,83 e 98,70%, quando comparado ao grupo controle, certificando a participação no sistema vanilóide.

No que diz respeito à via dos receptores vanilóides, sugere-se que o OEFC e o COEFC podem ser possíveis antagonistas desses receptores, reduzindo a liberação de Ca^{2+} e o estímulo excitatório. Assim, a ação antinociceptiva do OEFC e do COEFC envolve participação no

sistema vanilóide e corrobora com os dados apresentados no ensaio de placa quente, em razão de ambos ativarem os receptores vanilóides.

Figura 34 - Envolvimento do sistema vanilóide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por capsaicina em camundongos.



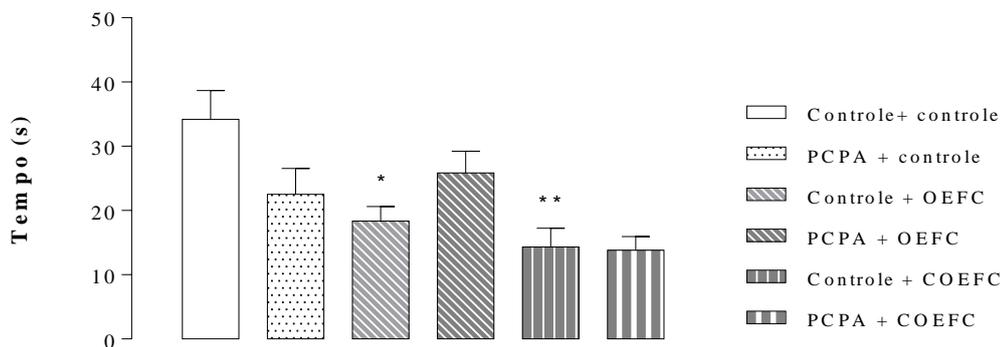
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento do sistema vanilóide na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por capsaicina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e vermelho de rutênio (3 mg/kg, i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: **** $p < 0,0001$; *** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

As vias serotoninérgicas no sistema nervoso central são reguladas através da liberação de 5-HT (serotonina) (LAU; SCHLOSS, 2012), que exerce efeito inibitório na transmissão nociceptiva nos neurônios por meio dos receptores 5-HT₁, 5-HT₂ e 5-HT₃ (MILLAN *et al.*, 1995) que, ao serem ativados, aumentam os níveis de serotonina e exibem resposta antinociceptiva (BOBINSKI *et al.*, 2015).

Na investigação da participação das vias serotoninérgicas, o tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) demonstrou efeito antinociceptivo em 46,35 e 58,06%. No entanto, a ação antinociceptiva de ambos não sofreu reversão quando associada ao inibidor da síntese de serotonina, o PCPA (p-clorofenilalanina), ou seja, o efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC não demonstraram participação na via serotoninérgica (Figura 35).

Figura 35 - Envolvimento das vias serotoninérgicas na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



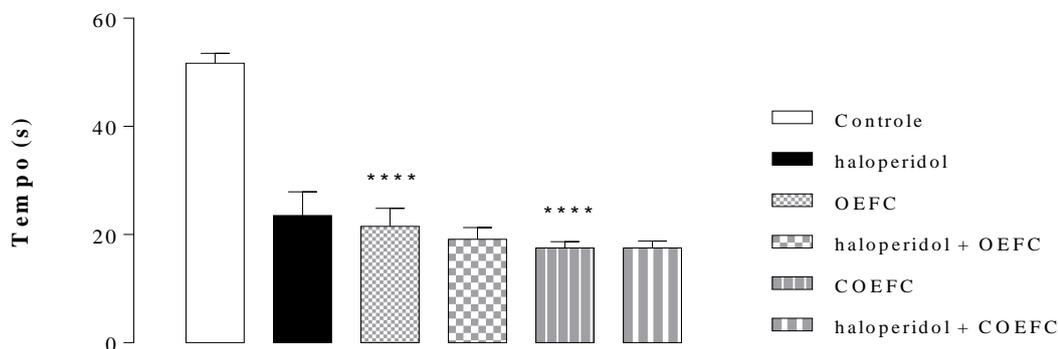
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento das vias serotoninérgicas na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e PCPA (100 mg/kg i.p.). Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

A dopamina promove supressão da dor através dos receptores dopaminérgicos (HAGELBERG *et al.*, 2004; WOOD, 2008), principalmente D2, podendo ser pelos D3 e D4 acoplados à proteína Gi, inibindo os canais de Ca^{2+} e aumentando os níveis de K^+ intracelular (KELLENDONK *et al.*, 2006; MISSALE *et al.*, 1998). No entanto, este feito antinociceptivo pode ser inibido após a administração do antagonista haloperidol (LIN *et al.*, 1981).

Na Figura 36, o tratamento com o OEFC (25 mg/kg/v.o.) e com o COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) reduziu de forma expressiva o tempo de lambedura da pata injetada com formalina quando comparado ao controle, em 58,38 e 66,13%, respectivamente. Todavia, o haloperidol (antagonista não-seletivo dos receptores de dopamina) não modificou o efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC, o que justifica possivelmente que a ação antinociceptiva de ambos não têm o efeito não envolve a participação no sistema dopaminérgico (Figura 36).

Figura 36 - Envolvimento do sistema dopaminérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



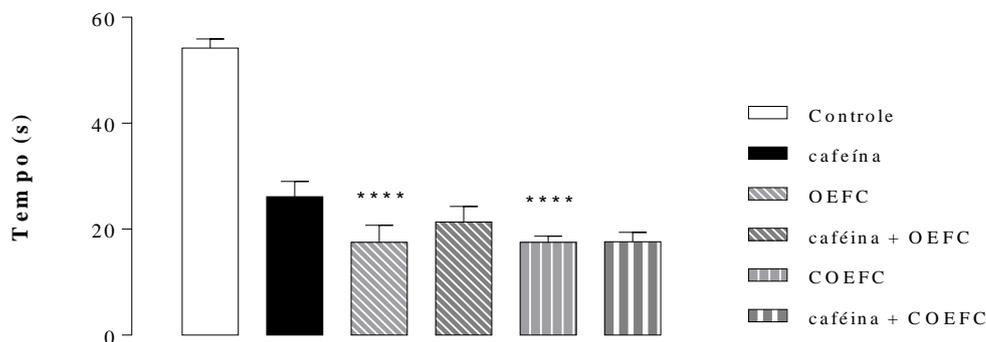
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento do sistema dopaminérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e administração prévia com haloperidol (0,2 mg/kg i.p.). Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: **** $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

Os receptores adenosinérgicos são acoplados à proteína G_i e atuam através da redução do AMPc intracelular, promovendo a abertura dos canais de potássio, o que propicia a hiperpolarização, inibindo a abertura dos canais de cálcio, diminuindo, assim, a liberação de neurotransmissores e, conseqüentemente, o estímulo doloroso. A cafeína tem ação sobre o sistema nervoso central, antagonizando de forma não seletiva os receptores de adenosina A1, A2a e A3 (CARRILLO; BENITEZ, 2000), promovendo o aumento do 3,5-AMP-cíclico através da inibição da fosfodiesterase (SHI; PADGETT; DALY, 2003) e liberação de cálcio intracelular (SHI; PADGETT; DALY, 2003).

O tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) reduziu de forma significativa o tempo de lambedura da pata injetada com formalina, ambos em 67,69%, quando comparado ao grupo controle. Contudo, o pré-tratamento com cafeína (antagonista não seletivo dos receptores de adenosina A1 e A2a) não reverteu a atividade antinociceptiva exercida pelos OEFC e COEFC (Figura 37).

Figura 37 - Envolvimento do sistema adenosinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos.



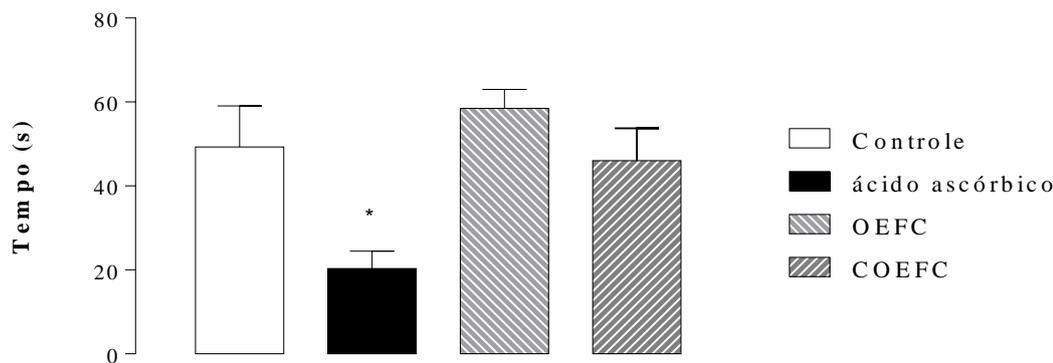
Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento do sistema adenosinérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por formalina em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e cafeína (10 mg/kg/i.p.) Valores representam a média ± E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo, ****p<0,0001 quando comparado ao grupo controle; Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

O glutamato é um neurotransmissor excitatório que tem ação nociceptiva pela ativação dos receptores AMPA (Ácido α -amino-3-hidrorxi-5-meitl-4-isoxazol propiônico) e NMDA (Ácido N-Metil-D-Aspártico), permitindo a passagem de Na^+ e Ca^{++} , promovendo o potencial de ação e, posteriormente, a resposta nociceptiva (SCHUMACHER; BASBAUM; WAY, 2012).

O tratamento com OEFC (25 mg/kg/v.o.) e COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) não reduziu de forma significativa o tempo de lambedura da pata injetada com glutamato quando comparado ao grupo controle. No entanto, o ácido ascórbico (antagonista dos receptores de NMDA) reduziu significativamente em 58,78%, demonstrando efetividade na sua ação. Os resultados comprovam que o efeito antinociceptivo do OEFC e do COEFC não envolve a participação do sistema glutamatérgico (Figura 38).

Figura 38 - Envolvimento do sistema glutamatérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por glutamato em camundongos.



Fonte: Elaborada pela autora (2017).

Envolvimento do sistema glutamatérgico na atividade antinociceptiva do OEFC (25 mg/kg/v.o.) e do COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) na nocicepção de pata induzida por glutamato em camundongos. Grupos: controle (0,1 mL/10g/v.o.), OEFC (25 mg/kg/v.o.), COEFC (8,35 mg/kg/v.o.) e ácido ascórbico (100 mg/kg i.p.). Valores representam a média \pm E.P.M. (erro padrão da média) para grupos de 6 animais. Sendo: * $p < 0,05$ quando comparado ao grupo controle. Análise estatística: ANOVA seguida do Teste de *Tukey's* com múltiplas comparações.

O 1, 8-cineol é considerado um antagonista raro natural dos receptores TRPA1, posto que apresentou o mecanismo de ativar o TRPM8 e inibir o TRPA1 (TAKAISHI *et al.*, 2012). O TRPM8 é considerado um mediador que promove a analgesia na dor aguda e inflamatória (LIU *et al.*, 2013). Este estudo corrobora com o nosso trabalho e sugere que a ação do OEFC e do COEFC, envolvendo a participação do sistema vanilóide, tem influência da ação do constituinte majoritário 1,8-cineol.

Em estudo realizado por Vidal *et al.*, (2017), a espécie *Croton rhamnifolioides* apresentou efeito gastroprotetor envolvendo o sistema opioide e a via do óxido nítrico, resultados estes que contribuem com o nosso estudo.

Alguns estudos com espécies do gênero *Croton* e o envolvimento dos possíveis mecanismos de ação envolvidos na resposta antinociceptiva também coadjuvam com a nossa pesquisa, como, por exemplo: o óleo essencial de *Croton conduplicatus* (OLIVEIRA JÚNIOR *et al.*, 2017) e *Croton argyrophyllus* Kunth (RAMOS, J. M. de O. *et al.*, 2017).

Nos ensaios anteriores, o OEFC e o COEFC apresentaram efeito antiedematogênico, inibindo as vias da histamina e o AA, bem como da carragenina e dextrana, e efeito anti-inflamatório, através dos modelos de permeabilidade vascular e lesão granulomatosa. Estes efeitos envolvendo o processo inflamatório estão associados à ação antinociceptiva do OEFC e do COEFC, uma vez que a dor está relacionada com ação de mediadores. O efeito

antinociceptivo do OEFC e do COEFC envolve a participação dos sistemas opioide, colinérgico, vanilóide, da via L-Arginina/NO e do receptor α -2 adrenérgico.

6 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou na caracterização química do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* o monoterpeneo 1,8-cineol como constituinte majoritário. A técnica de complexação por co-evaporação do OEFC com β -ciclodextrina (COEFC) resultou em melhores rendimentos, confirmada pelas análises de DSC, TG, Karl Fisher e MEV.

Na pesquisa de toxicidade aguda não clínica utilizando dose única oral de 2000 mg/kg, foi observado que o OEFC e o COEFC não produziram nenhum sinal clínico de toxicidade ou morte nos animais, demonstrando baixa toxicidade. No modelo de edema de orelha induzido pela aplicação única tópica de óleo de cróton, somente OEFC e 1,8 cineol demonstraram atividade anti-edematogênica tópica, entretanto, OEFC, 1,8 cineol e COEFC apresentaram efeito anti-inflamatório na fase aguda nos diferentes modelos de edema de pata, inflamação subcrônica no ensaio de lesão granulomatosa e permeabilidade vascular por extravasamento de azul de *Evans*. Estes resultados mostraram que o mecanismo de ação envolvendo a via da histamina e do ácido araquidônico forneceram evidências da participação do 1,8-cineol como um dos constituintes responsável pelo efeito.

Com relação à atividade a respeito do sistema nervoso central, o OEFC e o COEFC não alteraram a atividade exploratória e nem a coordenação motora, sugerindo que não existe nenhuma ação depressora ou excitatória no SNC. O OEFC e o COEFC demonstraram atividade antinociceptiva (central e periférica) nos diferentes modelos estudados, cuja ação envolve a participação dos sistemas opioide, colinérgico, vanilóide, da via L-Arginina/NO e do receptor α -2 adrenérgico.

Os dados relatados sugerem o potencial terapêutico do óleo essencial ou complexo com β -ciclodextrina (COEFC) como fonte para o desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios e antinociceptivos de interesse de clínicos e aplicações no tratamento de doenças, uma vez que o complexo do óleo essencial com doses menores apresentou resultados significativos, demonstrando ser uma nova opção terapêutica.

REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. H.; PILLAI, S. **Cellular and molecular immunology E-book**. [s.l.]: Elsevier Health Sciences, 2014. ISBN: 0323286453.
- ABDON, A. P. V *et al.* **Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton nepetaefolius* on mice**. *Brazilian journal of medical and biological research*, [s.l.], v. 35, n° 10, p. 1215–1219, 2002. ISSN: 0100-879X.
- ADAMS, H. R. **Physiologic, pathophysiologic, and therapeutic implications for endogenous nitric oxide**. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, [s.l.], v. 209, n° 7, p. 1297–1302, 1996. ISSN: 0003-1488.
- AFONINA, I. S. *et al.* **Limiting inflammation-the negative regulation of NF- κ B and the NLRP3 inflammasome**. *Nature immunology*, [s.l.], v. 18, n° 8, p. 861, 2017. ISSN: 1529-2916.
- AGUIAR, U. N. *et al.* **Preparação e caracterização do complexo de inclusão do óleo essencial de *Croton zehntneri* com β -Ciclodextrina**. [s.l.], 2014. ISSN: 0100-4042.
- AIDA, S. *et al.* **The effectiveness of preemptive analgesia varies according to the type of surgery: a randomized, double-blind study**. *Anesthesia & Analgesia*, [s.l.], v. 89, n° 3, p. 711, 1999. ISSN: 0003-2999.
- AL-GHAMDI, M. S. **The anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activity of *Nigella sativa***. *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 76, n° 1, p. 45–48, 2001. ISSN: 0378-8741.
- ALMEIDA, R. N.; NAVARRO, D. S.; BARBOSA-FILHO, J. M. **Plants with central analgesic activity**. *Phytomedicine*, [s.l.], v. 8, n° 4, p. 310–322, 2001. ISSN: 0944-7113.
- AMICO-ROXAS, M. *et al.* **Gangliosides antinociceptive effects in rodents**. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, [s.l.], v. 272, n° 1, p. 103–117, 1984. ISSN: 0003-9780.
- ANAYA-EUGENIO, G. D. *et al.* **Antinociceptive activity of the essential oil from *Artemisia ludoviciana***. *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 179, p. 403–411, 2016. ISSN: 0378-8741.
- ANDRADE, T. A. *et al.* **Physico-chemical characterization and antibacterial activity of inclusion complexes of *Hyptis martiusii* Benth essential oil in β -cyclodextrin**. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [s.l.], v. 89, p. 201–207, 2017. ISSN: 0753-3322.
- ANDÚJAR, I. *et al.* **Shikonin reduces oedema induced by phorbol ester by interfering with I κ B α degradation thus inhibiting translocation of NF- κ B to the nucleus**. *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 160, n° 2, p. 376–388, 2010. ISSN: 1476-5381.
- ANJANA, M. N.; NAIR, S. C.; JOSEPH, J. **An updated review of cyclodextrins-An enabling technology for challenging pharmaceutical formulations**. *Int J Pharm Pharm Sci*, [s.l.], v. 5, n° 3, p. 54–58, 2013.

ARAÚJO-FILHO, H. G. *et al.* **Neuroprotective effect of natural products on peripheral nerve degeneration: a systematic review.** *Neurochemical research*, [s.l.], v. 41, n° 4, p. 647–658, 2016. ISSN: 0364-3190.

ARAÚJO, S. L. S. M. DE *et al.* **Aspectos botânicos e clínicos das intoxicações por plantas das Famílias Araceae, Euphorbiaceae e Solanaceae no Estado de Pernambuco.** *Revista Fitos Eletrônica*, [s.l.], v. 11, n° 2, p. 126–139, 2018. ISSN: 2446-4775.

ARAÚJO NEVES, I. DE; CAMARA, C. A. G. DA. **Volatile Constituents of Two Croton Species from Caatinga Biome of Pernambuco--Brasil.** *Records of Natural Products*, [s.l.], v. 6, n° 2, 2012. ISSN: 1307-6167.

ARCHER, J. **Tests for emotionality in rats and mice: a review.** *Animal behaviour*, [s.l.], v. 21, n° 2, p. 205–235, 1973. ISSN: 0003-3472.

ASTUDILLO, A. M. *et al.* **Dynamics of arachidonic acid mobilization by inflammatory cells.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, [s.l.], v. 1821, n° 2, p. 249–256, 2012. ISSN: 1388-1981.

BADILLA, B. *et al.* **Determination of topical anti-inflammatory activity of the essential oil and extracts of Lippia alba (Mill.) NE Brown (Verbenaceae), using the model of mouse ear edema induced by TPA and AA.** *Pharmacognosy Magazine*, [s.l.], v. 3, n° 11, p. 139, 2007. ISSN: 0973-1296.

BAKKALI, F. *et al.* **Biological effects of essential oils—a review.** *Food and chemical toxicology*, [s.l.], v. 46, n° 2, p. 446–475, 2008. ISSN: 0278-6915.

BANERJEE, S. *et al.* **Assessment of the anti-inflammatory effects of Swertia chirata in acute and chronic experimental models in male albino rats.** *Indian Journal of Pharmacology*, [s.l.], v. 32, n° 1, p. 21–24, 2000. ISSN: 0253-7613.

BARRETO, R. *et al.* **β -Cyclodextrin-complexed carvacrol produces antinociceptive effect superior to that of carvacrol in orofacial pain models (657.15).** *The FASEB Journal*, [s.l.], v. 28, n° 1 Supplement, p. 615–657, 2014. ISSN: 0892-6638.

BARRINGTON, R. *et al.* **The role of complement in inflammation and adaptive immunity.** *Immunological reviews*, [s.l.], v. 180, n° 1, p. 5–15, 2001. ISSN: 1600-065X.

BATES, D. O. **Vascular endothelial growth factors and vascular permeability.** *Cardiovascular research*, [s.l.], p. cvq105, 2010. ISSN: 0008-6363.

BAYALA, B. *et al.* **Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso.** *PLoS One*, [s.l.], v. 9, n° 3, p. e92122, 2014. ISSN: 1932-6203.

BECKER, E. L. **Chemotactic factors of inflammation.** *Trends in Pharmacological Sciences*, [s.l.], v. 4, p. 223–225, 1983. ISSN: 0165-6147.

BEIRITH, A. *et al.* **Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrone in formalin,**

capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 345, n° 3, p. 233–245, 1998. ISSN: 0014-2999.

BENIGNI, R. **Piante medicinali; chimica, farmacologia e terapia.** [s.l.], 1962.

BIGHETTI, E. J. B. *et al.* **Anti-inflammatory and Antinociceptive Effects in Rodents of the Essential Oil of Croton cajucara Benth.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, [s.l.], v. 51, n° 12, p. 1447–1453, 1999. ISSN: 2042-7158.

BITU, V. *et al.* **Effect of collection time on composition of essential oil of LippiagracilisSchauer(Verbenaceae)growing in Northeast Brazil.** *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, [s.l.], 2015. DOI: 10.1080/0972060X.2014.935043.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas.** *Química Nova*, [s.l.], v. 32, n° 3, p. 588–594, 2009.

BOBINSKI, F. *et al.* **Role of brainstem serotonin in analgesia produced by low-intensity exercise on neuropathic pain following sciatic nerve injury in mice.** *Pain*, [s.l.], v. 156, n° 12, p. 2595, 2015.

BOSSCHER, K. DE; HAEGEMAN, G.; ELEWAUT, D. **Targeting inflammation using selective glucocorticoid receptor modulators.** *Current opinion in pharmacology*, [s.l.], v. 10, n° 4, p. 497–504, 2010. ISSN: 1471-4892.

BRAND, C. *et al.* **Tea tree oil reduces histamine-induced oedema in murine ears.** *Inflammation Research*, [s.l.], v. 51, n° 6, p. 283–289, 2002. ISSN: 1023-3830.

BRITO, M.; JÚNIOR, C. S. N.; SANTOS, H. F. **Análise estrutural de ciclodextrinas: um estudo comparativo entre métodos teóricos clássicos e quânticos.** *Química Nova*, [s.l.], v. 6, p. 882–888, 2004.

CALDAS, G. F. R. *et al.* **Gastroprotective mechanisms of the monoterpene 1, 8-cineole (eucalyptol).** *PloS one*, [s.l.], v. 10, n° 8, p. e0134558, 2015. ISSN: 1932-6203.

_____. **Repeated-doses and reproductive toxicity studies of the monoterpene 1, 8-cineole (eucalyptol) in Wistar rats.** *Food and Chemical Toxicology*, [s.l.], v. 97, p. 297–306, 2016. ISSN: 0278-6915.

CALVINO, B.; GRILO, R. M. **Central pain control.** *Joint Bone Spine*, [s.l.], v. 73, n° 1, p. 10–16, 2006. ISSN: 1297-319X.

CANNAVÀ, C. *et al.* **Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV-vis and FTIR-ATR spectroscopies.** *Vibrational Spectroscopy*, [s.l.], v. 48, n° 2, p. 172–178, 2008. ISSN: 0924-2031.

CARAMORI, G.; ADCOCK, I. **Anti-inflammatory mechanisms of glucocorticoids targeting granulocytes.** *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy*, [s.l.], v. 4, n° 4, p. 455–463, 2005. ISSN: 1568-010X.

CARMEN, R.-O. J. DEL *et al.* **Antinociceptive effect of aqueous extracts from the bark of**

Croton guatemalensis Lotsy in mice. *Research in pharmaceutical sciences*, [s.l.], v. 11, nº 1, p. 15, 2016.

CARRILLO, J. A.; BENITEZ, J. **Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications.** *Clinical pharmacokinetics*, [s.l.], v. 39, nº 2, p. 127–153, 2000. ISSN: 0312-5963.

CARVALHO, W. A.; LEMÔNICA, L. **Mecanismos celulares e moleculares da dor inflamatória. Modulação periférica e avanços terapêuticos.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, [s.l.], v. 48, nº 2, p. 137–158, 1998.

CATERINA, M. J. *et al.* **The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway.** *Nature*, [s.l.], v. 389, nº 6653, p. 816, 1997. ISSN: 1476-4687.

CELEDONIO, N. R. **Estudo do mecanismo de ação antinociceptivo e antiedematogênico do óleo essencial de Croton argyrophyloides e seus constituintes: alfa-pineno e trans-cariofileno.** *Universidade Estadual do Ceará, Mestrado Acadêmico em Ciências Fisiológicas*, [s.l.], 2008.

CHALLA, R. *et al.* **Cyclodextrins in drug delivery: an updated review.** *Aaps Pharmscitech*, [s.l.], v. 6, nº 2, p. E329–E357, 2005. ISSN: 1530-9932.

CHEN, S. **Natural products triggering biological targets-a review of the anti-inflammatory phytochemicals targeting the arachidonic acid pathway in allergy asthma and rheumatoid arthritis.** *Current drug targets*, [s.l.], v. 12, nº 3, p. 288–301, 2011. ISSN: 1389-4501.

CHOI, B.; ROWBOTHAM, M. C. **Effect of adrenergic receptor activation on post-herpetic neuralgia pain and sensory disturbances.** *Pain*, [s.l.], v. 69, nº 1–2, p. 55–63, 1997. ISSN: 0304-3959.

CHOI, J. H.; CHA, D. S.; JEON, H. **Anti-inflammatory and anti-nociceptive properties of Prunus padus.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 144, nº 2, p. 379–386, 2012. ISSN: 0378-8741.

CIFTCI, O. *et al.* **Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1, 8-cineole against 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver.** *Toxicology and Industrial Health*, [s.l.], v. 27, nº 5, p. 447–453, 2011. ISSN: 0748-2337.

CIOBANU, A.; LANDY, D.; FOURMENTIN, S. **Complexation efficiency of cyclodextrins for volatile flavor compounds.** *Food research international*, [s.l.], v. 53, nº 1, p. 110–114, 2013. ISSN: 0963-9969.

COLLIER, H. O. J. *et al.* **The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse.** *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 32, nº 2, p. 295–310, 1968. ISSN: 1476-5381.

CONTRAN, R. S. *et al.* **Patologia: Bases Patológicas das Doenças.** 8ªed. Elsevier Editora: Rio de Janeiro. 2010.

CORDEIRO, K. W. *et al.* **Anti-inflammatory and antinociceptive activities of Croton urucurana Baillon bark.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 183, p. 128–135, 2016. ISSN: 0378-8741.

CORR, M. *et al.* **Decreased Krev Interaction–Trapped 1 Expression Leads to Increased Vascular Permeability and Modifies Inflammatory Responses In Vivo.** *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, [s.l.], v. 32, n° 11, p. 2702–2710, 2012. ISSN: 1079-5642.

COSTA, A. C. V. DA *et al.* **Composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial das folhas de Croton rhamnifolioides Pax & Hoffm.** *Semina: Ciências Agrárias*, [s.l.], v. 34, n° 6, p. 2853–2864, 2013. ISSN: 1679-0359.

COSTA, J. G. M. DA *et al.* **Chemical composition and evaluation of the antibacterial activity and toxicity of the essential oil of Croton zehntneri (variety estragol).** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [s.l.], v. 18, n° 4, p. 583–586, 2008. ISSN: 0102-695X.

COURA, C. O. *et al.* **Mechanisms involved in the anti-inflammatory action of a polysulfated fraction from Gracilaria cornea in rats.** *PloS one*, [s.l.], v. 10, n° 3, p. e0119319, 2015. ISSN: 1932-6203.

COUTO, V. M. *et al.* **Antinociceptive effect of extract of Emilia sonchifolia in mice.** *Journal of Ethnopharmacology*, [s.l.], v. 134, n° 2, p. 348–353, 2011. ISSN: 0378-8741.

CRUVINEL, W. de M. *et al.* **Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória.** *Revista Brasileira de Reumatologia*, [s.l.], 2010. ISSN: 0482-5004.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; SÁ-BARRETO, L. C. L. **Utilização de ciclodextrinas na formação de complexos de inclusão de interesse farmacêutico.** *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, [s.l.], v. 28, n° 1, p. 1–9, 2009. ISSN: 2179-443X.

DANIEL, A. N. *et al.* **Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [s.l.], v. 19, n° 1B, p. 212–217, 2009. ISSN: 0102-695X.

DERAEDT, R. *et al.* **Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition.** *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 61, n° 1, p. 17–24, 1980. ISSN: 0014-2999.

DÍAZ-MORÁN, S. *et al.* **Relationships of open-field behaviour with anxiety in the elevated zero-maze test: focus on freezing and grooming.** *World Journal of Neuroscience*, [s.l.], v. 4, n° 1, p. 1, 2014.

DIMARTINO, M. J. *et al.* **The pharmacology of arachidonic acid-induced rat paw edema.** *Inflammation Research*, [s.l.], v. 21, n° 3, p. 303–305, 1987. ISSN: 1023-3830.

DUARTE, D. B.; VASKO, M. R.; FEHRENBACHER, J. C. **Models of inflammation: carrageenan air pouch.** *Current protocols in pharmacology*, [s.l.], p. 5–6, 2012. ISSN: 0471141755.

- DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. **A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice.** *Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s.l.], v. 46, n° 3, p. 208–209, 1957. ISSN: 1930-2304.
- EHRNHÖFER-RESSLER, M. M. *et al.* **Identification of 1, 8-cineole, borneol, camphor, and thujone as anti-inflammatory compounds in a *Salvia officinalis* L. infusion using human gingival fibroblasts.** *Journal of agricultural and food chemistry*, [s.l.], v. 61, n° 14, p. 3451–3459, 2013. ISSN: 0021-8561.
- FANTONE, J. C.; WARD, P. A. **Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions.** *The american journal of pathology*, [s.l.], v. 107, n° 3, p. 395, 1982.
- FEIJÓ, A. M. *et al.* **Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de Diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença.** *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, [s.l.], v. 14, n° 1, p. 50–56, 2012.
- FEIN, A. *et al.* **Nociceptores: as células que sentem dor.** *Tradução de PETROV, P.*, [s.l.], 2011.
- FERRÉ, S. *et al.* **Adenosine A2A receptors in ventral striatum, hypothalamus and nociceptive circuitry: implications for drug addiction, sleep and pain.** *Progress in neurobiology*, [s.l.], v. 83, n° 5, p. 332–347, 2007. ISSN: 0301-0082.
- FIGUEIRAS, A. R. **As ciclodextrinas como uma nova abordagem terapêutica para a administração de fármacos no cólon.** *Boletim Informativo Geum*, [s.l.], v. 7, n° 4, p. 11, 2018. ISSN: 2526-4095.
- FIGUEREDO, C. A. DE; GURGE, I. G. D.; JUNIOR, G. D. G. **A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios.** *Physis-Revista de Saúde Coletiva*, [s.l.], v. 24, n° 2, p. 381–400, 2014. ISSN: 0103-7331.
- FINAN, P. H.; SMITH, M. T. **The comorbidity of insomnia, chronic pain, and depression: dopamine as a putative mechanism.** *Sleep medicine reviews*, [s.l.], v. 17, n° 3, p. 173–183, 2013. ISSN: 1087-0792.
- FISCHER, L. G. *et al.* **Further antinociceptive properties of extracts and phenolic compounds from *Plinia glomerata* (Myrtaceae) leaves.** *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, [s.l.], v. 31, n° 2, p. 235–239, 2008. ISSN: 0918-6158.
- FORZZA, R. C. *et al.* **Catálogo de plantas e fungos do Brasil-Vol. 1.** [s.l.]: JBRJ, 2010. ISBN: 858874242X.
- GABALDÓN, J. A. *et al.* **Effect of HP- β -cyclodextrins complexation on the antioxidant activity of flavonols.** *Food Chemistry*, [s.l.], v. 118, n° 769–773, 2010.
- GÁBOR, M. **Models of acute inflammation in the ear.** *Inflammation protocols*. [s.l.]: Springer, 2003. p. 129–137.
- GAVÉRIAUX-RUFF, C. **Opiate-induced analgesia: contributions from mu, delta and**

kappa opioid receptors mouse mutants. *Current pharmaceutical design*, [s.l.], v. 19, n° 42, p. 7373–7381, 2013. ISSN: 1381-6128.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. **Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários.** *Química nova*, [s.l.], v. 30, n° 2, p. 374, 2007. ISSN: 0100-4042.

GONÇALVES, J. C. R. *et al.* **Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*.** *Pharmaceutical biology*, [s.l.], v. 55, n° 1, p. 782–786, 2017. ISSN: 1388-0209.

GREINER, J. F.-W. *et al.* **1, 8-Cineol inhibits nuclear translocation of NF- κ B p65 and NF- κ B-dependent transcriptional activity.** *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, [s.l.], v. 1833, n° 12, p. 2866–2878, 2013. ISSN: 0167-4889.

GUIDELINE, O. O. **425: acute oral toxicity—up-and-down procedure.** *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, [s.l.], v. 2, p. 12–16, 2001.

GUIMARÃES, Adriana G; QUINTANS, J. S. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. **Monoterpenes with analgesic activity—a systematic review.** *Phytotherapy Research*, [s.l.], v. 27, n° 1, p. 1–15, 2013. ISSN: 1099-1573.

GUIMARÃES, Adriana Gibara *et al.* **Encapsulation of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano, with β -cyclodextrin, improves the pharmacological response on cancer pain experimental protocols.** *Chemico-biological interactions*, [s.l.], v. 227, p. 69–76, 2015. ISSN: 0009-2797.

GUPTA, M. *et al.* **Studies on anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties of methanol extract of *Caesalpinia bonducella* leaves in experimental animal models.** *Iranian journal of Pharmacology and Therapeutics*, [s.l.], v. 2, n° 2, p. 30–34, 2003. [CSL STYLE ERROR: reference with no printed form.]

GUYTON, A. C. *et al.* **Controle local do fluxo sanguíneo pelos tecidos.** *Guyton AC, Hall JE-Tratado de Fisiologia Médica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan*, [s.l.], p. 166–173, 2002.

HĂDĂRUGĂ, N. G.; HĂDĂRUGĂ, D. I.; ISENGARD, H.-D. **Water content of natural cyclodextrins and their essential oil complexes: a comparative study between Karl Fischer titration and thermal methods.** *Food chemistry*, [s.l.], v. 132, n° 4, p. 1741–1748, 2012. ISSN: 0308-8146.

HAGELBERG, N. *et al.* **Striatal dopamine D2 receptors in modulation of pain in humans: a review.** *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 500, n° 1–3, p. 187–192, 2004. ISSN: 0014-2999.

HARTVIG, P. *et al.* **Cholinergic mechanisms in pain and analgesia.** *Trends in pharmacological sciences*, [s.l.], p. 75–79, 1989. ISSN: 0165-6147.

HENRIQUES, M. G. *et al.* **Mouse paw edema. A new model for inflammation?** *Brazilian journal of medical and biological research= Revista brasileira de pesquisas medicas e*

biologicas/Sociedade Brasileira de Biofisica...[et al.], [s.l.], v. 20, n° 2, p. 243–249, 1986. ISSN: 0100-879X.

HILAL-DANDAN, R.; BRUNTON, L. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. [s.l.]: AMGH Editora, 2015. ISBN: 858055506X.

HILL, L. E.; GOMES, C.; TAYLOR, T. M. **Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications**. *LWT-Food science and technology*, [s.l.], v. 51, n° 1, p. 86–93, 2013. ISSN: 0023-6438.

HIRUMA-LIMA, C. A. *et al.* **Gastroprotective effect of essential oil from Croton cajucara Benth.(Euphorbiaceae)**. *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 69, n° 3, p. 229–234, 2000. ISSN: 0378-8741.

HOQUE, I. *et al.* **A Review on different types of the Non Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs)**. *Int. J. Adv. Multidiscip. Res.*, [s.l.], v. 3, n° 9, p. 41–51, 2016.

HUANG, M.-H. *et al.* **Antioxidant and anti-inflammatory properties of Cardiospermum halicacabum and its reference compounds ex vivo and in vivo**. *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 133, n° 2, p. 743–750, 2011. ISSN: 0378-8741.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. **The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain**. *Pain*, [s.l.], v. 30, n° 1, p. 103–114, 1987. ISSN: 0304-3959.

HURBATH, F.; TORRES, D. S. C.; ROQUE, N. **Euphorbiaceae in Serra Geral of Licínio de Almeida, Bahia, Brazil**. *Rodriguésia*, [s.l.], v. 67, n° 2, p. 489–531, 2016. ISSN: 2175-7860.

HUSSEIN, S. Z. *et al.* **Gelam honey inhibits the production of proinflammatory mediators NO, PGE2, TNF- α , and IL-6 in carrageenan-induced acute paw edema in rats**. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, [s.l.], v. 2012, 2012. ISSN: 1741-427X.

IKEDA, Y. *et al.* **Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice**. *Life sciences*, [s.l.], v. 69, n° 24, p. 2911–2919, 2001. ISSN: 0024-3205.

IYER, A. K. *et al.* **Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting**. *Drug discovery today*, [s.l.], v. 11, n° 17, p. 812–818, 2006. ISSN: 1359-6446.

JACOB, J. J. C.; RAMABADRAN, K. **Enhancement of a nociceptive reaction by opioid antagonists in mice**. *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 64, n° 1, p. 91–98, 1978. ISSN: 1476-5381.

JAIN, S. *et al.* **In vivo anti-inflammatory activity of Tabernaemontana divaricata leaf extract on male albino mice**. *Chinese journal of natural medicines*, [s.l.], v. 11, n° 5, p. 472–476, 2013. ISSN: 1875-5364.

JI, R.-R. *et al.* **Central sensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms?** *Trends in neurosciences*, [s.l.], v. 26, n° 12, p. 696–705, 2003. ISSN: 0166-2236.

JIANG, N. **Host-guest interaction of β -cyclodextrin with isomeric ursolic acid and oleanolic acid: physicochemical characterization and molecular modeling study.** *Journal of biomedical research*, [s.l.], 2017. ISSN: 1674-8301.

JUERGENS, U. R. *et al.* **Antiinflammatory effects of euclyptol (1.8-cineole) in bronchial asthma: inhibition of arachidonic acid metabolism in human blood monocytes ex vivo.** *European journal of medical research*, [s.l.], v. 3, n° 9, p. 407–12, 1998. ISSN: 0949-2321.

_____. **Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial.** *Respiratory Medicine*, [s.l.], v. 97, n° 3, p. 250–256, 2003. ISSN: 0954-6111.

JULIUS, D.; BASBAUM, A. I. **Molecular mechanisms of nociception.** *Nature*, [s.l.], v. 413, n° 6852, p. 203, 2001. ISSN: 1476-4687.

JUN, S. W. *et al.* **Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, [s.l.], v. 66, n° 3, p. 413–421, 2007. ISSN: 0939-6411.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. **Plantas medicinais: cura segura.** *Química nova*, [s.l.], v. 28, n° 3, p. 519–528, 2005.

JUTEL, M.; AKDIS, M.; AKDIS, C. A. **Histamine, histamine receptors and their role in immune pathology.** *Clinical & Experimental Allergy*, [s.l.], v. 39, n° 12, p. 1786–1800, 2009. ISSN: 1365-2222.

KALE, M. *et al.* **Anti-inflammatory activity of Dalbergia lanceolaria bark ethanol extract in mice and rats.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 112, n° 2, p. 300–304, 2007. ISSN: 0378-8741.

KATZ, L. B. *et al.* **Characterization of the enhanced paw edema response to carrageenan and dextran in 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated rats.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, [s.l.], v. 230, n° 3, p. 670–677, 1984. ISSN: 0022-3565.

KATZUNG, B. G.; TREVOR, A. J. **Farmacologia Básica e Clínica-13.** [s.l.]: McGraw Hill Brasil, 2017. ISBN: 8580555973.

KAUCHI, B. A. G. **Investigação da participação de adrenoceptores $\alpha 1$ no efeito antinociceptivo da amitriptilina em um modelo de dor neuropática.** [s.l.], 2012.

KELLENDONK, C. *et al.* **Transient and selective overexpression of dopamine D2 receptors in the striatum causes persistent abnormalities in prefrontal cortex functioning.** *Neuron*, [s.l.], v. 49, n° 4, p. 603–615, 2006. ISSN: 0896-6273.

KHODABAKHSH, P.; SHAFAROODI, H.; ASGARPANA, J. **Analgesic and anti-inflammatory activities of Citrus aurantium L. blossoms essential oil (neroli): involvement of the nitric oxide/cyclic-guanosine monophosphate pathway.** *Journal of natural medicines*, [s.l.], v. 69, n° 3, p. 324–331, 2015. ISSN: 1340-3443.

KHUNTAWE, W. *et al.* **Molecular dynamics simulations of the interaction of beta cyclodextrin with a lipid bilayer.** *Journal of chemical information and modeling*, [s.l.], v. 55, n° 9, p. 1894–1902, 2015. ISSN: 1549-9596.

KIM, P. K.; DEUTSCHMAN, C. S. **Inflammatory responses and mediators.** *Surgical Clinics of North America*, [s.l.], v. 80, n° 3, p. 885–894, 2000. ISSN: 0039-6109.

KOELZER, J. *et al.* **Evaluation of the anti-inflammatory efficacy of Lotus corniculatus.** *Food chemistry*, [s.l.], v. 117, n° 3, p. 444–450, 2009. ISSN: 0308-8146.

KOSTER, R. **Acetic acid for analgesic screening.** In: *Fed proc.* [s.l.]: [s.n.], 1959.

KUMAR, T.; JAIN, V. **Antinociceptive and anti-inflammatory activities of bridelia retusa methanolic fruit extract in experimental animals.** *The Scientific World Journal*, [s.l.], v. 2014, 2014. ISSN: 2356-6140.

KUMAR, V.; ASTER, J. C.; ABBAS, A. **Robbins & Cotran Patologia-Bases Patológicas das Doenças.** [s.l.]: Elsevier Brasil, 2015. ISBN: 853525577X.

KUNNAJA, P.; WONGPALEE, S. P.; PANTHONG, A. **Evaluation of anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of the ethanol extract from Murdannia loriformis (Hassk.) Rolla Rao et Kammathy.** *BioImpacts: BI*, [s.l.], v. 4, n° 4, p. 183, 2014.

KURKOV, S. V.; LOFTSSON, T. **Cyclodextrins.** *International journal of pharmaceutics*, [s.l.], v. 453, n° 1, p. 167–180, 2013. ISSN: 0378-5173.

LAGE, H. *et al.* **Antitumor activity of terpenoids against classical and atypical multidrug resistant cancer cells.** *Phytomedicine*, [s.l.], v. 17, n° 6, p. 441–448, 2010. ISSN: 0944-7113.

LAI, J. *et al.* **Inhibition of neuropathic pain by decreased expression of the tetrodotoxin-resistant sodium channel, NaV1.8.** *Pain*, [s.l.], v. 95, n° 1–2, p. 143–152, 2002. ISSN: 0304-3959.

LALITHA, K. G.; SETHURAMAN, M. G. **Anti-inflammatory activity of roots of Ecbolium viride (Forsk) Merrill.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 128, n° 1, p. 248–250, 2010. ISSN: 0378-8741.

LAM, D. K. *et al.* **Neural mechanisms of temporomandibular joint and masticatory muscle pain: a possible role for peripheral glutamate receptor mechanisms.** *Pain Research and Management*, [s.l.], v. 10, n° 3, p. 145–152, 2005. ISSN: 1203-6765.

LAPA, A. J. *et al.* **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais.** *Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais*, [s.l.], p. 64–66, 2003.

L SANTOS, P. *et al.* **Cyclodextrins as Complexation Agents to Improve the Anti-**

inflammatory Drugs Profile: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Current pharmaceutical design*, [s.l.], v. 23, n° 14, p. 2096–2107, 2017. ISSN: 1389-2002.

LAU, T.; SCHLOSS, P. **Differential regulation of serotonin transporter cell surface expression.** *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, [s.l.], v. 1, n° 3, p. 259–268, 2012. ISSN: 2190-4618.

LEE, S. H. *et al.* **Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide.** *Journal of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 267, n° 36, p. 25934–25938, 1992. ISSN: 0021-9258.

LEME, J. G. *et al.* **Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenin and by heating.** *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 48, n° 1, p. 88–96, 1973. ISSN: 1476-5381.

LENT, R. **One hundred billion neurons: Fundamental Concepts of Neuroscience.** 2 nd. São Paulo: Atheneu. 2010. 786 p.

LEWIS, J. W.; BENTLEY, K. W.; COWAN, A. **Narcotic analgesics and antagonists.** *Annual review of pharmacology*, [s.l.], v. 11, n° 1, p. 241–270, 1971. ISSN: 0362-1642.

LEY, K. **Integration of inflammatory signals by rolling neutrophils.** *Immunological reviews*, [s.l.], v. 186, n° 1, p. 8–18, 2002. ISSN: 1600-065X.

LEYVA, E. *et al.* **Estudio de los complejos de inclusión de ácido nalidíxico y ácido oxolínico con ciclodextrinas.** *Revista de la Sociedad Química de México*, [s.l.], v. 48, n° 3, p. 189–195, 2004. ISSN: 0583-7693.

LI, P.; ZHUO, M. **Silent glutamatergic synapses and nociception in mammalian spinal cord.** *Nature*, [s.l.], v. 393, n° 6686, p. 695, 1998. ISSN: 1476-4687.

LIAPI, C. *et al.* **Antinociceptive properties of 1, 8-cineole and β -pinene, from the essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaves, in rodents.** *Planta medica*, [s.l.], v. 73, n° 12, p. 1247–1254, 2007. ISSN: 0032-0943.

LIJU, V. B.; JEENA, K.; KUTTAN, R. **Gastroprotective activity of essential oils from turmeric and ginger.** *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, [s.l.], v. 26, n° 1, p. 95–103, 2015. ISSN: 2191-0286.

LIMA, G. S. *et al.* **Antileishmanial activity and trypanothione reductase effects of terpenes from the Amazonian species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae).** *Phytomedicine*, [s.l.], v. 22, n° 12, p. 1133–1137, 2015. ISSN: 0944-7113.

LIMA, J. R. DE; ALVES, L. D. S.; SANTANA, D. P. DE. **Complexos de inclusão como estratégia para veiculação de óleos essenciais.** *Rev. Bras. Farm.*, [s.l.], v. 93, n° 4, p. 397–402, 2012.

LIMA, L. R. De; PIRANI, J. R. **Taxonomic revision of *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae ss).** *Biota Neotropica*, [s.l.], v. 8, n° 2, p. 0, 2008. ISSN: 1676-0603.

- LIMA GUEDES, F. DE *et al.* **Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos.** *Rev. Bras. Farm*, [s.l.], v. 89, p. 3, 2008.
- LIN, M. T. *et al.* **Activation of striatal dopamine receptors induces pain inhibition in rats.** *Journal of neural transmission*, [s.l.], v. 51, n° 3–4, p. 213–222, 1981. ISSN: 0300-9564.
- LINS, R. *et al.* **The anticonvulsant effect of geraniol and inclusion complex geraniol: beta-cyclodextrin.** *Bol. latinoam. Caribe plantas med. aromát*, [s.l.], v. 13, n° 6, p. 557–565, 2014. ISSN: 0717-7917.
- LIU, B. *et al.* **TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain.** *PAIN®*, [s.l.], v. 154, n° 10, p. 2169–2177, 2013. ISSN: 0304-3959.
- LO, T. N.; ALMEIDA, A. P.; BEAVEN, M. A. **Dextran and carrageenan evoke different inflammatory responses in rat with respect to composition of infiltrates and effect of indomethacin.** *Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, [s.l.], v. 221, n° 1, p. 261–267, 1982. ISSN: 0022-3565.
- LOPES, M. A. *et al.* **Estudo das plantas medicinais, utilizadas pelos pacientes atendidos no programa “Estratégia saúde da família” em Maringá/PR/Brasil.** *Rev. bras. plantas med*, [s.l.], v. 17, n° 4, supl. 1, p. 702–706, 2015. ISSN: 1516-0572.
- LUCENA, M. F. A. **Levantamento taxonômico da família Euphorbiaceae Juss. nos brejos de altitude de Pernambuco. Recife, 114p.** *Monografia (Bacharelado em Ciências Biológicas)–Universidade Federal Rural de Pernambuco*, [s.l.], 1996.
- LUCENA, M. F. A. **Estudos taxonômicos do gênero Croton L.(Crotonoideae–Euphorbiaceae) nas zonas do litoral e da Mata do estado de Pernambuco–Brasil.** *Estudos taxonômicos do gênero Croton L.(Crotonoideae-Euphorbiaceae) nas zonas do Litoral e da Mata do estado de Pernambuco-Brasil*, [s.l.], 2000.
- LUNA, S. P. L. **Dor e sofrimento animal.** RIVERA, EAB; AMARAL, MH; NASCIMENTO, VP *Ética e Bioética. Goiânia*, [s.l.], p. 131–158, 2006.
- MACIEL, M. A. M; PINTO, A. C; VEIGA JÚNIOR, V. F. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** *Química Nova*, v. 25, p. 429-438, 2002.
- MAJEWSKA, M. D.; BELL, J. A.; LONDON, E. D. **Regulation of the NMDA receptor by redox phenomena: inhibitory role of ascorbate.** *Brain research*, [s.l.], v. 537, n° 1–2, p. 328–332, 1990. ISSN: 0006-8993.
- MALEKI, N.; NAYEBI, A. M.; GARJANI, A. **Effects of central and peripheral depletion of serotonergic system on carrageenan-induced paw oedema.** *International immunopharmacology*, [s.l.], v. 5, n° 12, p. 1723–1730, 2005. ISSN: 1567-5769.
- MALING, H. M. *et al.* **Inflammation induced by histamine, serotonin, bradykinin and compound 48/80 in the rat: antagonists and mechanisms of action.** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, [s.l.], v. 191, n° 2, p. 300–310, 1974. ISSN: 0022-3565.

MANTOVANI, M. *et al.* **Mechanisms involved in the antinociception caused by melatonin in mice.** *Journal of pineal research*, [s.l.], v. 41, n° 4, p. 382–389, 2006. ISSN: 1600-079X.

MARCHIONNI, A. M. T.; PAGNONCELLI, R. M.; ALMEIDA REIS, S. R. DE. **Influência do meloxicam e da dexametasona no processo inflamatório e no reparo tecidual.** *Revista Odonto Ciência*, [s.l.], v. 21, n° 51, p. 22–29, 2006. ISSN: 1980-6523.

MARONE, G.; GALLI, S. J.; KITAMURA, Y. **Probing the roles of mast cells and basophils in natural and acquired immunity, physiology and disease.** *Trends in immunology*, [s.l.], v. 23, n° 9, p. 425–427, 2002. ISSN: 1471-4906.

MARRETO, R. N. *et al.* **Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex containing Lippia gracilis essential oil.** *Thermochimica Acta*, [s.l.], v. 475, n° 1, p. 53–58, 2008. ISSN: 0040-6031.

MATIOLI, G. **Ciclodextrinas e suas aplicações em: alimentos, fármacos, cosméticos, agricultura, biotecnologia, química analítica e produtos gerais.** *Ciclodextrinas e suas aplicações em: alimentos, fármacos, cosméticos, agricultura, biotecnologia, química analítica e produtos gerais*. [s.l.]: Eduem, 2000.

MCCORMACK, B.; GREGORIADIS, G. **Drugs-in-cyclodextrins-in-liposomes: an approach to controlling the fate of water insoluble drugs in vivo.** *International journal of pharmaceutics*, [s.l.], v. 162, n° 1, p. 59–69, 1998. ISSN: 0378-5173.

MCCURDY, C. R.; SCULLY, S. S. **Analgesic substances derived from natural products (natureceuticals).** *Life Sciences*, [s.l.], v. 78, n° 5, p. 476–484, 2005. ISSN: 0024-3205.

MELLER, S. T.; GEBHART, G. F. **Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord.** *Pain*, [s.l.], v. 52, n° 2, p. 127–136, 1993. ISSN: 0304-3959.

MENEZES, P. P. *et al.* **Inclusion complex of (–)-linalool and β -cyclodextrin.** *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, [s.l.], v. 115, n° 3, p. 2429–2437, 2014. ISSN: 1388-6150.

MESSING, R. B.; LYTTLE, L. D. **Serotonin-containing neurons: their possible role in pain and analgesia.** *Pain*, [s.l.], v. 4, p. 1–21, 1977. ISSN: 0304-3959.

MIGUEL, M. G. **Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review.** *Molecules*, [s.l.], v. 15, n° 12, p. 9252–9287, 2010.

MILLAN, M. J. *et al.* **Pro-and antinociceptive actions of serotonin (5-HT) 1A agonists and antagonists in rodents: relationship to algometric paradigm.** *Behavioural brain research*, [s.l.], v. 73, n° 1–2, p. 69–77, 1995. ISSN: 0166-4328.

_____. **Descending control of pain.** *Progress in neurobiology*, [s.l.], v. 66, n° 6, p. 355–474, 2002. ISSN: 0301-0082.

MISSALE, C. *et al.* **Dopamine receptors: from structure to function.** *Physiological*

reviews, [s.l.], v. 78, n° 1, p. 189–225, 1998. ISSN: 1522-1210.

MOON, H. K. *et al.* **Effects of 1, 8-cineole on hypertension induced by chronic exposure to nicotine in rats.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, [s.l.], v. 66, n° 5, p. 688–693, 2014. ISSN: 2042-7158.

MORAES, C. M. *et al.* **Preparação e caracterização físico-química de complexos de inclusão entre anestésicos locais e hidroxipropil-beta-ciclodextrina.** *Química Nova*, [s.l.], 2007. ISSN: 0100-4042.

MORAIS, S. M. DE *et al.* **Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de Croton do nordeste do Brasil.** *Química Nova*, [s.l.], v. 29, n° 5, p. 907, 2006. ISSN: 0100-4042.

MORCIA, C.; MALNATI, M.; TERZI, V. **In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens.** *Food Additives & Contaminants: Part A*, [s.l.], v. 29, n° 3, p. 415–422, 2012. ISSN: 1944-0049.

MOTA, A. S. *et al.* **Antinociceptive activity and toxicity evaluation of the fatty oil from Plukenetia polyadenia Mull. Arg.(Euphorbiaceae).** *Molecules*, [s.l.], v. 20, n° 5, p. 7925–7939, 2015.

MURAKAWA, M. *et al.* **Involvement of tumor necrosis factor (TNF)- α in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice.** *Biochemical pharmacology*, [s.l.], v. 71, n° 9, p. 1331–1336, 2006. ISSN: 0006-2952.

NANTEL, F. *et al.* **Distribution and regulation of cyclooxygenase-2 in carrageenan-induced inflammation.** *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 128, n° 4, p. 853–859, 1999. ISSN: 1476-5381.

NASCIMENTO, N. R. F. *et al.* **1, 8-Cineole induces relaxation in rat and guinea-pig airway smooth muscle.** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, [s.l.], v. 61, n° 3, p. 361–366, 2009. ISSN: 2042-7158.

NASCIMENTO, S. S.; ARAÚJO, A. A. S. *et al.* **Cyclodextrin-complexed Ocimum basilicum leaves essential oil increases Fos protein expression in the central nervous system and produce an antihyperalgesic effect in animal models for fibromyalgia.** *International journal of molecular sciences*, [s.l.], v. 16, n° 1, p. 547–563, 2014.

NASCIMENTO, S. S.; CAMARGO, E. A. *et al.* **Linalool and linalool complexed in β -cyclodextrin produce anti-hyperalgesic activity and increase Fos protein expression in animal model for fibromyalgia.** *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, [s.l.], v. 387, n° 10, p. 935–942, 2014. ISSN: 0028-1298.

NASCIMENTO JÚNIOR, B. J. *et al.* **Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil.** *Rev. bras. plantas med.*, [s.l.], v. 18, n° 1, p. 57–66, 2016. ISSN: 1516-0572.

- NGUELEFACK, T. B. *et al.* **TRPV1 channel inhibition contributes to the antinociceptive effects of Croton macrostachyus extract in mice.** *BMC complementary and alternative medicine*, [s.l.], v. 15, n° 1, p. 293, 2015. ISSN: 1472-6882.
- NISSEN, L. *et al.* **Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (Cannabis sativa L.).** *Fitoterapia*, [s.l.], v. 81, n° 5, p. 413–419, 2010. ISSN: 0367-326X.
- NOGUEIRA, L. de 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, 2015. ISSN: 1741-427X.
- NUSSLER, A. K.; BILLIAR, T. R. **Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase.** *Journal of leukocyte biology*, [s.l.], v. 54, n° 2, p. 171–178, 1993. ISSN: 0741-5400.
- NWAEHUIJOR, C. O. *et al.* **Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of Mallotus oppositifolius (Geisel) methanol leaf extracts.** *Arabian Journal of Chemistry*, [s.l.], v. 7, n° 5, p. 805–810, 2014. ISSN: 1878-5352.
- O'BANION, M. K. **Cyclooxygenase-2: molecular biology, pharmacology, and neurobiology.** *Critical ReviewsTM in Neurobiology*, [s.l.], v. 13, n° 1, 1999. ISSN: 0892-0915.
- OLIVEIRA, A. C. *et al.* **Antinociceptive effects of the essential oil of Croton zehntneri in mice.** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, [s.l.], v. 34, n° 11, p. 1471–1474, 2001. ISSN: 0100-879X.
- OLIVEIRA, C. M. B. DE *et al.* **Citocinas e dor.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, [s.l.], v. 61, n° 2, p. 260–265, 2011. ISSN: 0034-7094.
- OLIVEIRA, K. Á. R. DE *et al.* **Synergistic inhibition of bacteria associated with minimally processed vegetables in mixed culture by carvacrol and 1, 8-cineole.** *Food Control*, [s.l.], v. 47, p. 334–339, 2015. ISSN: 0956-7135.
- OLIVEIRA JÚNIOR, R. G. DE *et al.* **Antinociceptive Effect of the Essential Oil from Croton conduplicatus Kunth (Euphorbiaceae).** *Molecules*, [s.l.], v. 22, n° 6, p. 900, 2017.
- OLIVEIRA RAMALHO, T. R. DE *et al.* **Gamma-terpinene modulates acute inflammatory response in mice.** *Planta medica*, [s.l.], v. 81, n° 14, p. 1248–1254, 2015. ISSN: 0032-0943.
- OMOTE, K. *et al.* **Peripheral nitric oxide in carrageenan-induced inflammation.** *Brain research*, [s.l.], v. 912, n° 2, p. 171–175, 2001. ISSN: 0006-8993.
- OTSUKA, N. *et al.* **Antinociceptive efficacy of antidepressants: assessment of five antidepressants and four monoamine receptors in rats.** *Journal of anesthesia*, [s.l.], v. 15, n° 3, p. 154–158, 2001. ISSN: 0913-8668.
- PALHARES, M. R. *et al.* **Synergistic antinociceptive effect of a calcium channel blocker and a TRPV1 blocker in an acute pain model in mice.** *Life sciences*, [s.l.], v. 182, p. 122–128, 2017. ISSN: 0024-3205.

- PATEL, N. B. **Capítulo 3 Fisiologia da Dor**. *Guia para o Tratamento da Dor em Contextos de Poucos Recursos*, [s.l.], p. 9, 2010.
- PAVAO-DE-SOUZA, G. F. *et al.* **Acetic acid-and phenyl-p-benzoquinone-induced overt pain-like behavior depends on spinal activation of MAP kinases, PI3K and microglia in mice**. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, [s.l.], v. 101, n° 3, p. 320–328, 2012. ISSN: 0091-3057.
- PEREIRA, A. F. *et al.* **Relaxant effect of the essential oil of *Croton nepetifolius* on ovine cervix**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [s.l.], v. 22, n° 3, p. 522–527, 2012. ISSN: 0102-695X.
- PEREIRA, F. E. L.; BOGLIOLO, L. **Bogliolo Patologia**. 6ªed. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2004.
- PEURA, D. A.; GOLDKIND, L. **Balancing the gastrointestinal benefits and risks of nonselective NSAIDs**. *Arthritis research & therapy*, [s.l.], v. 7, n° 4, p. S7, 2005. ISSN: 1478-6354.
- PINA, L. T. S. *et al.* **New perspectives for chronic pain treatment: a patent review (2010-2016)**. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, [s.l.], p. 1–10, 2017. ISSN: 1354-3776.
- PINHO, E. *et al.* **Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds**. *Carbohydrate Polymers*, [s.l.], v. 101, p. 121–135, 2014. ISSN: 0144-8617.
- PINTO, E. de P. P.; AMOROZO, M. C. de M.; FURLAN, A. **Conhecimento popular sobre plantas medicinais em comunidades rurais de mata atlântica-Itacaré, BA, Brasil**. *Acta botanica brasílica*, [s.l.], p. 751–762, 2006. ISSN: 0102-3306.
- PONTE, E. L. DA. **Efeito Anti - Inflamatório Do Óleo Essencial De *Croton zehntneri* Pax Et Hofm e do anetol**. 90 p. - Universidade Estadual do Ceará, 2009.
- POSADAS, I. *et al.* **Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression**. *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 142, n° 2, p. 331–338, 2004. ISSN: 1476-5381.
- QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *et al.* **β -Cyclodextrin-complexed (-)-linalool produces antinociceptive effect superior to that of (-)-linalool in experimental pain protocols**. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, [s.l.], v. 113, n° 3, p. 167–172, 2013. ISSN: 1742-7843.
- QUINTANS, J. de S. S. *et al.* **Improvement of p-cymene antinociceptive and anti-inflammatory effects by inclusion in β -cyclodextrin**. *Phytomedicine*, [s.l.], v. 20, n° 5, p. 436–440, 2013. ISSN: 0944-7113.
- RAHMAN, M. A.; BACHAR, S. C.; RAHMATULLAH, M. **Analgesic and antiinflammatory activity of methanolic extract of *Acalypha indica* Linn**. *Pak. J. Pharm. Sci*, [s.l.], v. 23, n° 3, p. 256–258, 2010.
- RAMA, A. C. R. *et al.* **Aspectos biofarmacêuticos da formulação de medicamentos para**

neonatos: fundamentos da complexação de indometacina com hidroxipropil-beta-ciclodextrina para tratamento oral do fechamento do canal arterial. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, [s.l.], v. 41, n° 3, p. 281–299, 2005. ISSN: 1809-4562.

RAMOS, J. M. de O. *et al.* **Impact of *Croton argyrophyllus* essential oil on behavioural models of nociception.** *Flavour and Fragrance Journal*, [s.l.], v. 32, n° 1, p. 40–45, 2017. ISSN: 1099-1026.

RAMOS, J. M. O. *et al.* **Chemical constituents and potential anti-inflammatory activity of the essential oil from the leaves of *Croton argyrophyllus*.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [s.l.], v. 23, n° 4, p. 644–650, 2013. ISSN: 0102-695X.

RAMPRASATH, V. R.; SHANTHI, P.; SACHDANANDAM, P. **Anti-inflammatory effect of *Semecarpus anacardium* Linn. Nut extract in acute and chronic inflammatory conditions.** *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, [s.l.], v. 27, n° 12, p. 2028–2031, 2004. ISSN: 0918-6158.

RANDAU, K. P. **Estudo farmacognóstico (farmacobotânico e farmacológico) e atividade biológica do *Croton rhamnifolius* HBK e *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm.(Euphorbiaceae).** *Euphorbiaceae*. *Master's thesis. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE*, [s.l.], 2001.

_____. **Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* HBK and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm.(Euphorbiaceae).** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, [s.l.], v. 14, n° 2, p. 89–96, 2004. ISSN: 0102-695X.

RASHEED, A.; VVNS, S. S. **Cyclodextrins as drug carrier molecule: a review.** *Scientia Pharmaceutica*, [s.l.], v. 76, n° 4, p. 567–598, 2008.

REICHLING, D. B.; LEVINE, J. D. **The primary afferent nociceptor as pattern generator.** *Pain*, [s.l.], v. 82, p. S103–S109, 1999. ISSN: 0304-3959.

RIBEIRO, R. A. *et al.* **Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic acid in mice.** *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 387, n° 1, p. 111–118, 2000. ISSN: 0014-2999.

RIBEIRO BRUNING, M. C.; BITTENCOURT GONZALEZ MOSEGUI, G.; MANSO DE MELO VIANNA, C. **A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde.** *Ciência & Saúde Coletiva*, [s.l.], v. 17, n° 10, 2012. ISSN: 1413-8123.

ROCHA, A. P. C. *et al.* **Dor: aspectos atuais da sensibilização periférica e central.** *Revista Brasileira de Anestesiologia*, [s.l.], 2007. ISSN: 0034-7094.

RODRIGUES, L. B. *et al.* **Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: in vivo mouse models.** *Chemico-biological interactions*, [s.l.], v. 257, p. 14–25, 2016. ISSN: 0009-2797.

_____. **Anti-inflammatory activity of the essential oil obtained from *Ocimum basilicum***

complexed with β -cyclodextrin (β -CD) in mice. *Food and Chemical Toxicology*, [s.l.], 2017. ISSN: 0278-6915.

ROSLAND, J. H.; HUNSKAAR, S.; HOLE, K. **Diazepam Attenuates Morphine Antinociception Test-Dependently in Mice.** *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, [s.l.], v. 66, n° 5, p. 382–386, 1990. ISSN: 1600-0773.

ROZZA, A. L.; PELLIZZON, C. H. **Essential oils from medicinal and aromatic plants: a review of the gastroprotective and ulcer-healing activities.** *Fundamental & clinical pharmacology*, [s.l.], v. 27, n° 1, p. 51–63, 2013. ISSN: 1472-8206.

RUSTAY, N. R.; WAHLSTEN, D.; CRABBE, J. C. **Influence of task parameters on rotarod performance and sensitivity to ethanol in mice.** *Behavioural brain research*, [s.l.], v. 141, n° 2, p. 237–249, 2003. ISSN: 0166-4328.

SALATINO, A.; SALATINO, M. L. F.; NEGRI, G. **Traditional uses, chemistry and pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae).** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, [s.l.], v. 18, n° 1, p. 11–33, 2007. ISSN: 0103-5053.

SALVEMINI, D. *et al.* **Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation.** *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 118, n° 4, p. 829–838, 1996. ISSN: 1476-5381.

_____. **A nonpeptidyl mimic of superoxide dismutase with therapeutic activity in rats.** *Science*, [s.l.], v. 286, n° 5438, p. 304–306, 1999. ISSN: 0036-8075.

SANTOS, A. C. B. *et al.* **Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, [s.l.], v. 17, n° 4 supl II, p. 980–991, 2015.

SANTOS, A. R. S. *et al.* **Mechanisms involved in the antinociception caused by agmatine in mice.** *Neuropharmacology*, [s.l.], v. 48, n° 7, p. 1021–1034, 2005. ISSN: 0028-3908.

SANTOS, F. A. A.; RAO, V. S. N. S. N.; OTHERS. **Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1, 8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils.** *Phytotherapy research*, [s.l.], v. 14, n° 4, p. 240–244, 2000. ISSN: 0951-418X.

SANTOS, F A *et al.* **Antinociceptive effect of leaf essential oil from Croton sonderianus in mice.** *Life sciences*, [s.l.], v. 77, n° 23, p. 2953–2963, 2005. ISSN: 0024-3205.

SANTOS, F A; RAO, V. S. N. **Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1, 8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils.** *Phytotherapy research*, [s.l.], v. 14, n° 4, p. 240–244, 2000. ISSN: 0951-418X.

SANTOS, Flávia A; RAO, V. S. N. **Mast cell involvement in the rat paw oedema response to 1, 8-cineole, the main constituent of eucalyptus and rosemary oils.** *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 331, n° 2, p. 253–258, 1997. ISSN: 0014-2999.

SANTOS, G. K. N. *et al.* **Effects of Croton rhamnifolioides essential oil on Aedes aegypti oviposition, larval toxicity and trypsin Activity.** *Molecules*, [s.l.], v. 19, n° 10, p. 16573–16587, 2014.

SANTOS, H. S. *et al.* **Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae) of essential oils from leaves, stalks and roots of the *Croton nepetaefolius* Baill (Euphorbiaceae).** [s.l.], 2017.

SANTOS, O. J. Dos; TORRES, O. J. M. **Phytotherapy evolution in the healing process in surgery.** *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)*, [s.l.], v. 25, n° 3, p. 139, 2012. ISSN: 0102-6720.

SARAIVA, M. E. *et al.* **Plant species as a therapeutic resource in areas of the savanna in the state of Pernambuco, Northeast Brazil.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 171, p. 141–153, 2015. ISSN: 0378-8741.

SARIA, A.; LUNDBERG, J. M. **Evans blue fluorescence: quantitative and morphological evaluation of vascular permeability in animal tissues.** *Journal of neuroscience methods*, [s.l.], v. 8, n° 1, p. 41–49, 1983. ISSN: 0165-0270.

SARMENTO NETO, J. F. **Óleos essenciais com atividade antinociceptiva: uma revisão.** [s.l.], 2015.

SÁTIRO, L. N.; ROQUE, N. **A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil.** [s.l.], 2008. ISSN: 0102-3306.

SATO, J.; PERL, E. R. **Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury.** *Science*, [s.l.], v. 251, n° 5001, p. 1608–1610, 1991. ISSN: 0036-8075.

SCHECHTMANN, G. *et al.* **Cholinergic mechanisms involved in the pain relieving effect of spinal cord stimulation in a model of neuropathy.** *Pain*, [s.l.], v. 139, n° 1, p. 136–145, 2008. ISSN: 0304-3959.

SCHMIDTKO, A.; TEGEDER, I.; GEISSLINGER, G. **No NO, no pain? The role of nitric oxide and cGMP in spinal pain processing.** *Trends in neurosciences*, [s.l.], v. 32, n° 6, p. 339–346, 2009. ISSN: 0166-2236.

SCHUMACHER, M. A.; BASBAUM, A. I.; WAY, W. L. **Opioid analgesics and antagonists [e-book].** *KatzungBG, Masters SB, Trevor AJ (ed.)*, [s.l.], 2012.

SECCO, R. de S. *et al.* **An overview of recent taxonomic studies on Euphorbiaceae sl in Brazil.** *Rodriguésia*, [s.l.], v. 63, n° 1, p. 227–242, 2012. ISSN: 2175-7860.

SERAFINI, Mairim R *et al.* **Natural compounds for solar photoprotection: A patent review.** *Expert opinion on therapeutic patents*, [s.l.], v. 25, n° 4, p. 467–478, 2015. ISSN: 1744-7674.

SERAFINI, M R *et al.* **Interaction of p-cymene with β -cyclodextrin.** *Journal of thermal analysis and calorimetry*, [s.l.], v. 109, n° 2, p. 951–955, 2001. ISSN: 1388-6150.

SERHAN, C. N.; OLIW, E. **Unorthodox routes to prostanoid formation: new twists in cyclooxygenase-initiated pathways.** *The Journal of clinical investigation*, [s.l.], v. 107, n°

12, p. 1481–1489, 2001. ISSN: 0021-9738.

SHERJE, A. P. *et al.* **Inclusion Complexation of Etodolac with Hydroxypropyl-beta-cyclodextrin and Auxiliary Agents: Formulation Characterization and Molecular Modeling Studies.** *Molecular Pharmaceutics*, [s.l.], v. 14, n° 4, p. 1231–1242, 2017. ISSN: 1543-8384.

SHI, D.; PADGETT, W. L.; DALY, J. W. **Caffeine analogs: effects on ryanodine-sensitive calcium-release channels and GABA A receptors.** *Cellular and molecular neurobiology*, [s.l.], v. 23, n° 3, p. 331–347, 2003. ISSN: 0272-4340.

SHIH, C.-C. *et al.* **Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of Ethyl Acetate Fraction of an Edible Red Macroalgae *Sarcodia ceylanica*.** *International journal of molecular sciences*, [s.l.], v. 18, n° 11, p. 2437, 2017.

SILVA, C. E. L. DA *et al.* **Chemical composition and cytotoxic activity of the root essential oil from *Jatropha ribifolia* (Pohl) Baill (Euphorbiaceae).** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, [s.l.], v. 26, n° 2, p. 233–238, 2015. ISSN: 0103-5053.

SILVA, C. G. *et al.* **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, [s.l.], v. 17, n° 1, p. 133–142, 2015. ISSN: 1516-0572.

SILVA, J. C. *et al.* **Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão.** *Brazilian Journal of Pharmacy*, [s.l.], v. 94, p. 18–23, 2013.

SILVA, J. S. *et al.* **Synopsis of the species of *Croton* L.(Euphorbiaceae) in Pernambuco state, Brazil.** *Acta Botanica Brasilica*, [s.l.], v. 24, n° 2, p. 441–453, 2010. ISSN: 0102-3306.

SIMIONATTO, E. *et al.* **Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, [s.l.], v. 18, n° 5, p. 879–885, 2007. ISSN: 0103-5053.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: Do Produto Natural ao Medicamento.** [s.l.]: Artmed Editora, 2016. ISBN: 8582713657.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. *et al.* **Anti-hyperalgesic effect of *Lippia grata* leaf essential oil complexed with β -cyclodextrin in a chronic musculoskeletal pain animal model: Complemented with a molecular docking and antioxidant screening.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [s.l.], v. 91, p. 739–747, 2017. ISSN: 0753-3322.

SIQUEIRA-LIMA, P. S. *et al.* **β -Cyclodextrin Complex Containing *Lippia grata* Leaf Essential Oil Reduces Orofacial Nociception in Mice—Evidence of Possible Involvement of Descending Inhibitory Pain Modulation Pathway.** *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, [s.l.], v. 114, n° 2, p. 188–196, 2014. ISSN: 1742-7843.

SITHOLE, M. N. *et al.* **Development of a Novel Polymeric Nanocomposite Complex for Drugs with Low Bioavailability.** *AAPS PharmSciTech*, [s.l.], p. 1–12, 2017. ISSN: 1530-

9932.

SODRÉ, R. C.; SILVA, M. J. DA. **O gênero Croton L.(Euphorbiaceae ss–Crotonoideae) na Floresta Nacional de Silvânia, Goiás, Brasil.** *Iheringia. Série Botânica.*, [s.l.], v. 70, n° 1, p. 89–104, 2015. ISSN: 2446-8231.

STULZER, H. K. *et al.* **Antioedematogenic effect of marrubiin obtained from Marrubium vulgare.** *Journal of Ethnopharmacology*, [s.l.], v. 108, n° 3, p. 379–384, 2006. ISSN: 0378-8741.

SUDHOFF, H. *et al.* **1, 8-Cineol reduces mucus-production in a novel human ex vivo model of late rhinosinusitis.** *PloS one*, [s.l.], v. 10, n° 7, p. e0133040, 2015. ISSN: 1932-6203.

SUZUKI, R.; RYGH, L. J.; DICKENSON, A. H. **Bad news from the brain: descending 5-HT pathways that control spinal pain processing.** *Trends in pharmacological sciences*, [s.l.], v. 25, n° 12, p. 613–617, 2004. ISSN: 0165-6147.

SZENTE, L.; SZEJTLI, J. **Cyclodextrins as food ingredients.** *Trends in Food Science & Technology*, [s.l.], v. 15, n° 3, p. 137–142, 2004. ISSN: 0924-2244.

TAKAISHI, M. *et al.* **1, 8-cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1.** *Molecular pain*, [s.l.], v. 8, n° 1, p. 86, 2012. ISSN: 1744-8069.

TALAREK, S. *et al.* **Effects of sildenafil treatment on the development of tolerance to diazepam-induced motor impairment and sedation in mice.** *Pharmacological Reports*, [s.l.], v. 62, n° 4, p. 627–634, 2010. ISSN: 1734-1140.

TAO, F. *et al.* **Synthesis and characterization of β -cyclodextrin inclusion complexes of thymol and thyme oil for antimicrobial delivery applications.** *LWT-Food Science and Technology*, [s.l.], v. 59, n° 1, p. 247–255, 2014. ISSN: 0023-6438.

TASKER, R. A. R.; CONNELL, B. J.; YOLE, M. J. **Systemic injections of alpha-1 adrenergic agonists produce antinociception in the formalin test.** *Pain*, [s.l.], v. 49, n° 3, p. 383–391, 1992. ISSN: 0304-3959.

TEIXEIRA, M. J. **Fisiopatologia da nocicepção e da supressão da dor.** *Neto AO, Costa CMC, Siqueira JTT, Teixeira MJ. Dor: princípios e prática. Porto Alegre: Artmed*, [s.l.], p. 205–226, 2009.

TITA, B. *et al.* **Analgesic properties of Epilobium angustifolium, evaluated by the hot plate test and the writhing test.** *Il Farmaco*, [s.l.], v. 56, n° 5, p. 341–343, 2001. ISSN: 0014-827X.

TJØLSEN, A. *et al.* **The formalin test: an evaluation of the method.** *Pain*, [s.l.], v. 51, n° 1, p. 5–17, 1992. ISSN: 0304-3959.

TOMINAGA, M. *et al.* **The cloned capsaicin receptor integrates multiple pain-producing stimuli.** *Neuron*, [s.l.], v. 21, n° 3, p. 531–543, 1998. ISSN: 0896-6273.

TORRES, R. C.; INSUELA, D. B. R.; FARIAS CARVALHO, V. DE. **Mecanismos celulares e moleculares da ação antiinflamatória dos glicocorticoides.** *Corpus et Scientia*, [s.l.], v. 8, n° 2, p. 36–51, 2012. ISSN: 1981-6855.

TORRES, S. R. *et al.* **Anti-inflammatory effects of peripheral benzodiazepine receptor ligands in two mouse models of inflammation.** *European journal of pharmacology*, [s.l.], v. 408, n° 2, p. 199–211, 2000. ISSN: 0014-2999.

TSELEPIS, A. D.; CHAPMAN, M. J. **Inflammation, bioactive lipids and atherosclerosis: potential roles of a lipoprotein-associated phospholipase A2, platelet activating factor-acetylhydrolase.** *Atherosclerosis Supplements*, [s.l.], v. 3, n° 4, p. 57–68, 2002. ISSN: 1567-5688.

TSURUMI, K. *et al.* **Pharmacological investigations of the new antiinflammatory agent 2-(10, 11-dihydro-10-oxodibenzo [b, f] thiepin-2-yl) propionic acid. 2nd communication: inhibitory effects on acute inflammation and prostaglandin-related reactions.** *Arzneimittel-Forschung*, [s.l.], v. 36, n° 12, p. 1801–1805, 1986. ISSN: 0004-4172.

TUBARO, A. *et al.* **The croton oil ear test revisited.** *Inflammation Research*, [s.l.], v. 17, n° 3, p. 347–349, 1986. ISSN: 1023-3830.

VALE, F. M. DO. **Dor. Novos aspectos fisiopatológicos e consequentes estratégias farmacológicas.** [s.l.], 2000.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. **New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs.** *Inflammation research*, [s.l.], v. 44, n° 1, p. 1–10, 1995. ISSN: 1023-3830.

VARELLA, P. P. V; FORTE, W. C. N. **Citocinas: revisão.** *Rev bras alergologia imunopatol*, [s.l.], v. 24, p. 146–154, 2001.

VERMA, P. R. *et al.* **Antinociceptive activity of alcoholic extract of *Hemidesmus indicus* R. Br. in mice.** *Journal of Ethnopharmacology*, [s.l.], v. 102, n° 2, p. 298–301, 2005. ISSN: 0378-8741.

VIDAL, C. S. *et al.* **Gastroprotective effect and mechanism of action of *Croton rhamnifolioides* essential oil in mice.** *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [s.l.], v. 89, p. 47–55, 2017. ISSN: 0753-3322.

VINEGAR, R.; TRUAX, J. F.; SELPH, J. L. **Some quantitative temporal characteristics of carrageenin-induced pleurisy in the rat.** *Experimental Biology and Medicine*, [s.l.], v. 143, n° 3, p. 711–714, 1973. ISSN: 1535-3702.

VUNDA, S. L. L. *et al.* **Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides*, and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils.** *Parasitology research*, [s.l.], v. 111, n° 3, p. 961–966, 2012. ISSN: 0932-0113.

WALKER, E. A. *et al.* **Naltrexone and β -funaltrexamine antagonism of the antinociceptive and response rate-decreasing effects of morphine, dezocine, and d-propoxyphene.** *Psychopharmacology*, [s.l.], v. 144, n° 1, p. 45–53, 1999. ISSN: 0033-3158.

WEBSTER, G. L. **Classification of the Euphorbiaceae.** *Annals of the Missouri Botanical Garden*, [s.l.], p. 3–32, 1994. ISSN: 0026-6493.

WHITE, W.; STEIN, C. **Capítulo 1 Histórico, Definições e Opiniões Atuais.** *Guia para o tratamento da dor em contextos de poucos recursos*, [s.l.], p. 1, 2010.

WILLIAMS, T. J. **Prostaglandin E2, prostaglandin I2 and the vascular changes of inflammation.** *British journal of pharmacology*, [s.l.], v. 65, n° 3, p. 517–524, 1979. ISSN: 1476-5381.

WILLIS JR, W. D. **The somatosensory system, with emphasis on structures important for pain.** *Brain research reviews*, [s.l.], v. 55, n° 2, p. 297–313, 2007. ISSN: 0165-0173.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. **Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs.** *Experimental Biology and Medicine*, [s.l.], v. 111, n° 3, p. 544–547, 1962. ISSN: 1535-3702.

WOOD, P. B. **Mesolimbic dopaminergic mechanisms and pain control.** *Pain*, [s.l.], v. 120, n° 3, p. 230–234, 2006. ISSN: 0304-3959.

_____. **Role of central dopamine in pain and analgesia.** *Expert review of neurotherapeutics*, [s.l.], v. 8, n° 5, p. 781–797, 2008. ISSN: 1473-7175.

WOOLF, C J. **Recent advances in the pathophysiology of acute pain.** *British Journal of Anaesthesia*, [s.l.], v. 63, n° 2, p. 139–146, 1989. ISSN: 0007-0912.

WOOLF, Clifford J; CHONG, M.-S. **Preemptive analgesia-treating postoperative pain by preventing the establishment of central sensitization.** *Anesthesia & Analgesia*, [s.l.], v. 77, n° 2, p. 362–379, 1993. ISSN: 0003-2999.

WOOLFE, G.; MACDONALD, A. D. **The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol).** *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, [s.l.], v. 80, n° 3, p. 300–307, 1944. ISSN: 0022-3565.

WURDACK, K. J.; DAVIS, C. C. **Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life.** *American Journal of Botany*, [s.l.], v. 96, n° 8, p. 1551–1570, 2009. ISSN: 0002-9122.

XIMENES, R. M. *et al.* **Antinociceptive and wound healing activities of Croton adamantinus Müll. Arg. essential oil.** *Journal of natural medicines*, [s.l.], v. 67, n° 4, p. 758–764, 2013. ISSN: 1340-3443.

YANG, Y.; TANG, L.-Q.; WEI, W. **Prostanoids receptors signaling in different diseases/cancers progression.** *Journal of Receptors and Signal Transduction*, [s.l.], v. 33, n° 1, p. 14–27, 2013. ISSN: 1079-9893.

YASSA, N. *et al.* **Chemical composition and antioxidant activity of the extract and essential oil of Rosa damascena from Iran, population of Guilan.** *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, [s.l.], v. 17, n° 3, p. 175–180, 2015.

YU, M. *et al.* **The role of interleukin-6 in pulmonary inflammation and injury induced by exposure to environmental air pollutants.** *Toxicological Sciences*, [s.l.], v. 68, n° 2, p. 488–497, 2002. ISSN: 1096-0929.

YUN, K.-J. *et al.* **Inhibition of LPS-induced NO and PGE 2 production by asiatic acid via NF- κ B inactivation in RAW 264.7 macrophages: possible involvement of the IKK and MAPK pathways.** *International immunopharmacology*, [s.l.], v. 8, n° 3, p. 431–441, 2008. ISSN: 1567-5769.

ZANUSSO-JUNIOR, G. *et al.* **Evaluation of the anti-inflammatory activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in rodents.** *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, [s.l.], v. 13, n° 1, p. 17–23, 2011. ISSN: 1516-0572.

ZAPPI, D. **Fitofisionomia da Caatinga associada à Cadeia do Espinhaço.** *Megadiversidade*, [s.l.], v. 4, n° 1–2, p. 34–37, 2008.

ZERAATI, F.; ARAGHCHIAN, M.; FARJOO, M. H. **Ascorbic Acid interaction with analgesic effect of morphine and tramadol in mice.** *Anesthesiology and pain medicine*, [s.l.], v. 4, n° 3, 2014.

ZHAO, C. *et al.* **1, 8-cineol attenuates LPS-induced acute pulmonary inflammation in mice.** *Inflammation*, [s.l.], v. 37, n° 2, p. 566–572, 2014. ISSN: 0360-3997.

ZHAO, J. *et al.* **Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton crassifolius* ethanol extract.** *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 142, n° 2, p. 367–373, 2012. ISSN: 0378-8741.

APÊNDICE A - PRODUÇÃO CIENTÍFICA 2014-2018

Artigo publicado relacionado a tese:

MARTINS, A. O. B. P. B *et al.* Anti-edematogenic and anti-inflammatory activity of the essential oil from *Croton rhamnifolioides* leaves and its major constituent 1,8-cineole (eucalyptol). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 384-395, 2017.

Artigo submetido:

MARTINS, A. O. B. P. B *et al.* Physical-chemical characterization and anti-inflammatory effect of the *Croton rhamnifolioides* essential oil inclusion complex in beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, 2018.

Artigo em elaboração:

MARTINS, A. O. B. P. B *et al.* Efeito antinociceptivo do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* e do complexo de inclusão em β -ciclodextrina. 2018

Artigos Publicados em colaboração:

MARTINS, A. O. B. P. B *et al.* Antimicrobial, Gastroprotective and Healing Effect of the Hydroalcoholic Extract of *Astronium fraxinifolium*. **Letters in Drug Design & Discovery**. 2018.

CESÁRIO, Francisco Rafael Alves Santana *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Phytochemical profile and mechanisms involved in the anti-nociception caused by the hydroethanolic extract obtained from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltl.) K. Schum (Jenipapo-bravo) leaves in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 321-329, 2018.

CESÁRIO, Francisco Rafael Alves Santana *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Chemical fingerprint, acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of leaves from *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlecht.) K. Schum. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2018.

CESÁRIO, Francisco Rafael Alves Santana *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Evaluation of the antioxidant and gastroprotective activity and HPLC analysis of the hydroalcoholic extract of *Tocoyena formosa* leaves (Cham. & Schlecht) K. Schum. **Food and Chemical Toxicology**, 2018.

OLIVEIRA-TINTINO, Cícera Datiane de Moraes *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Anti-inflammatory and anti-edematogenic action of the *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) essential oil and the compound β -caryophyllene in in vivo models. **Phytomedicine**. 2018.

CESÁRIO, Francisco Rafael Alves Santana *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Efeitos do óleo essencial do *Croton argyrophylloides* nas lesões gástricas induzidas por etanol e indometacina em camundongos. **Cadernos de Cultura e Ciência**, v. 13, n. 2, p. 17-28, 2015.

RODRIGUES, Lindaiane Bezerra *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Anti-inflammatory activity of the essential oil obtained from *Ocimum basilicum* complexed with β -cyclodextrin (β -CD) in mice. **Food and Chemical Toxicology**, 2017.

VIDAL, Cinara Soares *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Gastroprotective effect and mechanism of action of *Croton rhamnifolioides* essential oil in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 89, p. 47-55, 2017.

ARAÚJO-FILHO, Heitor G. *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. D-limonene exhibits superior antihyperalgesic effects in a β -cyclodextrin-complexed form in chronic musculoskeletal pain reducing Fos protein expression on spinal cord in mice. **Neuroscience**, v. 358, p. 158-169, 2017.

RODRIGUES, Lindaiane Bezerra *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Anti-inflammatory and antiedematogenic activity of the *Ocimum basilicum* essential oil and its main compound estragole: in vivo mouse models. **Chemico-biological interactions**, v. 257, p. 14-25, 2016.

SILVA, Juliane C. *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Enhancement of orofacial antinociceptive effect of carvacrol, a monoterpene present in oregano and thyme oils, by β -cyclodextrin inclusion complex in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 84, p. 454-461, 2016.

SIEBRA, Ana Luiza A. *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Potentiation of antibiotic activity by *Passiflora cincinnata* Mast. front of strains *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 2016.

SIEBRA, Ana Luiza A. *et al.*, ... & MARTINS, A.O.B.P.B. Atividade antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos de *Passiflora cincinnata* Mast. (maracujá-do-mato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 19, p. 1-8, 2015.

Apresentações de trabalho em eventos científicos:

MARTINS, A. O. B. P. B.; RODRIGUES, L. B.; TINTINO, C. D. M. O.; ALCÂNTARA, I. S.; DA SILVA, M. S. A.; ALBUQUERQUE, T. H; MENEZES, I. R. A; QUINTANS JÚNIOR, L. J.; WANDERLEY, A. G. Efeito antiedematogênico do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* (QUEBRA-FACA). VI Simpósio Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 27 a 30 de setembro de 2017, UNIVASF- Juazeiro-BA.

MARTINS, A. O. B. P. B.; CASTRO, F. F.; OLIVEIRA, C. D. M.; QUINTANS JUNIOR, L. J.; ARAUJO, A. A. S.; MENEZES, I. R. A.; WANDERLEY, A. G. Efeito anti-inflamatorio topico e sistêmico do oleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax E Hoffm (quebra faca branca). X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

OLIVEIRA, M. R. C.; VIDAL, C. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; ALCANTARA, I. S.; BRITO, S. M. O.; SILVA, B. A. F.; ALBUQUERQUE, T. R.; MENEZES, I. R. A. Avaliação do possível envolvimento do óxido nítrico na atividade gastroprotetora do óleo essencial das folhas do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax e Hoffman (quebra-faca). V Animal Lab, 16 a 20 de outubro de 2015 em Fortaleza-CE.

PESSOA, R. T.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; RODRIGUES, L. B.; CESARIO, F. R. A. S.; ALCANTARA, I. S.; CASTRO, F. F.; DA SILVA, M. S. A.; FERNANDES, M. N. M.; MENEZES, I. R. A.; WANDERLEY, A. G. Atividade anti-inflamatória do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* nos modelos de permeabilidade vascular e granuloma. VI Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, 27 a 30 de setembro de 2017, UNIVASF- Juazeiro-BA.

DA SILVA, M. S. A.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; WANDERLEY, A. G.; MENEZES, I. R. A.; Efeito antinociceptivo do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm no modelo de contorções abdominais. XX Semana de Iniciação Científica da URCA & II Encontro de pós-graduação, 23 a 27 de outubro de 2017, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

SILVA, M. S. A.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; RODRIGUES, L. B.; CESARIO, F. R. A. S.; ALCANTARA, I. S.; CASTRO, F. F.; OLIVEIRA, MARIA R. C.; MENEZES, I. R. A.; WANDERLEY, A. G. Atividade antinociceptiva do óleo essencial das folhas de *Croton rhamnifolioides* Pax. & K. Hoffm. VI Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, 27 a 30 de setembro de 2017, UNIVASF- Juazeiro-BA.

PESSOA, R. T.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; WANDERLEY, A. G.; MENEZES, I. R. A. Determinação da dose letal média do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* (quebra-faca) em modelos animais. XX Semana de Iniciação Científica da URCA & II Encontro de pós-graduação, 23 a 27 de outubro de 2017, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

ALCANTARA, I. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; CESARIO, F. R. A. S.; RODRIGUES, L. B.; DO NASCIMENTO, E. P.; DA SILVA, B. A. F.; MENEZES, I. R. A.; WANDERLEY, A. G. Ação do óleo essencial das folhas de *Croton Rhamnifolioides* Pax e Hoffm sobre o sistema nervoso central. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

ALCANTARA, I. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; VIDAL, C. S.; OLIVEIRA, M. R. C.; CASTRO, F. F.; MENEZES, I. R. A. Efeito gastroprotetor do óleo essencial das folhas de *Croton Rhamnifolioides* Pax e Hoffman. I Semana Nacional de Ciência e Tecnologia da Região do Cariri Cearense e XVIII Semana de Iniciação Científica da URCA, 19 a 23 de outubro de 2015, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

OLIVEIRA, M. R. C.; BRITO, S. M. O.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A. Identificação do potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico das folhas do *Ziziphus joazeirbo* Mart. I Semana Nacional de Ciência e Tecnologia da Região do Cariri Cearense e XVIII Semana de Iniciação Científica da URCA, 19 a 23 de outubro de 2015, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

OLIVEIRA, M. R. C.; BRITO, S. M. O.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A. Avaliação da ação cicatrizante em animais de uma formulação incorporando o extrato das folhas do *Ziziphus joazeiro* Mart., nas concentrações 100, 200 e 400 mg/g. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

SILVA, B. A. F.; DA COSTA, R. H. S.; LEITE, L. H. I.; LIMA, C. N. F.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; RODRIGUES, L. B.; CESARIO, F. R. A. S.; MENEZES, I. R. A. Efeito anti-edematoso do extrato hidroetanólico das cascas de *Ximenia americana* L. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

CASTRO, F. F.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; SIEBRA, A. L. A.; CESARIO, F. R. A. S.; FERNANDES, M. N. M.; RODRIGUES, L. B.; KENTORPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico das cascas *Astronium faxinifolium* Schott (Gonçalo) em modelos clássicos de lesão gástrica aguda. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

FERNANDES, M. N. M.; RODRIGUES, L. B.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; CESARIO, F. R. A. S.; QUINTANS JUNIOR, L. J.; ARAUJO, A. A. S.; MENEZES, I. R. A. Atividade anti-inflamatória tópica e sistêmica do óleo essencial *Ocimum basilicum* L. em camundongos. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

ALBUQUERQUE, T. R.; CESARIO, F. R. A. S.; LACERDA, G. M.; OLIVEIRA, M. R. C.; SILVA, B. A. F.; RODRIGUES, L. B.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A. Avaliação da atividade anti-inflamatória e da toxicidade aguda oral do extrato hidroalcoólico das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Shltdl.) K. Schum. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; PESSOA, R. T.; FERNANDES, M. N. M.; ALCANTARA, I. S.; SILVA, B. A. F.; OLIVEIRA, M. R. C.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A.; SILVA, T. G. Mechanism of anti-inflammatory action of *Croton campetris* essential oil and β -caryophyllene constituent - MAACCEOBCC. 49TH Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), October 17 to 20, 2017, Ribeirão Preto, São Paulo.

RODRIGUES, L. B.; RAMOS, A. G. B.; LACERDA NETO, L. J.; CESÁRIO, F. R. A. S.; OLIVEIRA, C. D. M.; TINTINO, S. R.; SALES, V. S.; **PEREIRA, A. O. B.**; MENEZES, I. R. A.; RODRIGUES, C. K. S. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oil *Hyptis martiusii* Benth (cidreira brava) by peritonitis carrageenan-induced model. 46TH Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), October 21 to 24, 2014, Fortaleza-CE.

MARANHAO, H. M. L.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; VASCONCELOS, C. F. B.; ROLIM, L. A.; SILVA-NETO, J. C.; SILVA FILHO, R. C.; COSTA-SILVA, J. H.; FERNANDES, M. P.; ARAUJO, A. V.; WANDERLEY, A. G. Hepatoprotective effect of the aqueous extract of *Simarouba amara* Aublet (Simaroubaceae) stem bark against carbon tetrachloride (CCL4) -

induced hepatic damage in rats. 46TH Brazilian Congress of Pharmacology and Experimental Therapeutics (SBFTE), october 21 to 24, 2014, Fortaleza-CE.

OLIVEIRA, C. D. M.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; SIEBRA, A. L. A.; RODRIGUES, L. B.; TINTINO, S. R.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A. Potencial antioxidante *in vitro* do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott (gonçalavo), através dos métodos espectrofotométricos de captura de radical livre DPPH e redução do teor de ferro (FRAP). II Simpósio Latino-americano de Biotecnologia do Nordeste, 03 a 06 de agosto de 2014, Universidade Federal do Piauí (UFPI).

OLIVEIRA, C. D. M.; RAMOS, A. G. B.; LACERDA NETO, L. J.; TINTINO, S. R.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; SILVA, A. A.; MENEZES, I. R. A. Envolvimento do receptor TRPV1 no efeito antinociceptivo visceral do óleo essencial *Hyptis martiusii* Benth (cidreira-brava). II Simpósio Latino-americano de Biotecnologia do Nordeste, 03 a 06 de agosto de 2014, Universidade Federal do Piauí (UFPI).

MATOS, M. C. B.; RODRIGUES, L. B.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; CESARIO, F. R. A. S.; CASTRO, F. C.; FERNANDES, M. N. M.; DA SILVA, B. A. F.; MENEZES, I. R. A.; Atividade anti-inflamatória sistêmica do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em camundongos. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

ALCANTARA, I. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; DA COSTA, R. H. S.; OLIVEIRA, M. R. C.; MENEZES, I. R. A. Avaliação da atividade carrapaticida do extrato hidroalcoólico das cascas de *Ximenia Americana* L.(Olacaceae) contra *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*. II Semana Universitária da URCA & XIX Semana de Iniciação Científica da URCA, 17 a 21 de outubro de 2016, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

ALCANTARA, I. S.; DA COSTA, R. H. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; OLIVEIRA, M. R. C.; MENEZES, I. R. A. Avaliação da atividade moduladora da cipermetrina associada ao extrato hidroalcoólico das cascas de *Ximenia Americana* L.(Olacaceae) contra *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*. XX Semana de Iniciação Científica da URCA & II Encontro de pós-graduação, 23 a 27 de outubro de 2017, Universidade Regional do Cariri (Crato-CE).

ALCANTARA, I. S.; DA COSTA, R. H. S.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; DA SILVA, B. A. F.; SILVA, M. G. L.; DE OLIVEIRA, V. A. P.; MENEZES, I. R. A.; Avaliação da atividade carrapaticida do extrato hidroalcoólico das cascas de *Ximenia Americana* L. (Olacaceae) contra *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*. VI Simpósio Plantas Medicinais do Vale do São Francisco, 27 a 30 de setembro de 2017, UNIVASF- Juazeiro-BA.

SILVA, A. A.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; SIEBRA, A. L. A.; LEITE, G. O.; OLIVEIRA, L. R.; OLIVEIRA, C. D. M.; MENEZES, I. R. A. Determinação da atividade cicatrizante do extrato hidroalcoólico das cascas de *Astronium fraxinifolium* Schott(gonçalavo) através da análise de parâmetro morfométricos. II Simpósio Latino-americano de Biotecnologia do Nordeste, 03 a 06 de agosto de 2014, Universidade Federal do Piauí (UFPI).

ARAUJO, F. O. ; MENEZES, P. P. ; ANDRADE, T. A. ; SOUSA, B. M. H. ; SANTANA, D. V. S. ; DORIA, G. A. A. ; QUINTANS-JUNIOR, L. J. ; COSTA, E. V. ; SILVA, G. F. ; MENEZES, I. A. ; **PEREIRA, A. O. B.** ; LEITE, L. H. I. ; NASCIMENTO, E. P. ; BEZERRA, D. P. ; SERAFINI, M. R. ; ARAUJO, A. A. S. . Caracterização físico-química e avaliação

farmacológica do complexo de inclusão do óleo essencial da *Lippia pedunculosa* em β -ciclodextrina. IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, 2014, SERRA NEGRA.

OLIVEIRA, M. R. C.; BRITO, S. M. O.; SILVA, A. A.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A. Avaliação da dose letal média e da atividade gastroprotetora do extrato hidroalcolico das folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart., frente aos modelos clássicos em animais. Semana de Iniciação Científica da Universidade Regional do Cariri, 2014.

CESARIO, F. R. A. S.; ALBUQUERQUE, T. R.; LACERDA, G. M.; OLIVEIRA, M. R. C.; SILVA, B. A. F.; RODRIGUES, L. B.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; MENEZES, I. R. A. Avaliação da atividade gastroprotetora promovida pelo extrato hidroetanolico obtido a partir das folhas de *Tocoyena formosa* (Cham. & Schltdl.) K. Schum em camundongos. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

SOARES, T. R. C.; FERNANDES, C. N.; DO NASCIMENTO, E. P.; SALES, V. S.; RODRIGUES, C. K. S.; BEZERRA, S. J. B.; SILVA, A. A.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; BARBOSA, R.; DA COSTA, J. G. M.; FELIPE, C. F. B.; MENEZES, I. R. A; KERNTOPF, M. R. Análise do efeito do extrato hidroalcolico das folhas de *Passiflora cincinnata* Mast. sobre o edema de pata induzido por carragenina em camundongos. X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio de Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, 16 a 19 de setembro de 2015, UNIVASF- Juazeiro-BA.

SOUZA, H. H. F.; LIMA, C. N. F.; **MARTINS, A. O. B. P. B.**; SIEBRA, A. L. A.; MENEZES, I. R. A; KERNTOPF, M. R. Efeito antiulcerogênico do extrato da *Annona squamosa* L.: envolvimento das prostaglandinas. IX Semana de Iniciação Científica da Faculdade de Juazeiro do Norte, realizada nos dias 25 a 27 de outubro de 2017.

Participação científica (congressos, simpósios, cursos, mini-cursos e eventos)

- X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco;
Período: 16 a 19 de setembro de 2015;
Carga horária: 30 horas;
Complexo Multieventos da UNIVASF, Juazeiro da Bahia-BA;
- Minicurso: Modelos farmacológicos para avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de produtos naturais;
Período: 16 a 19 de setembro de 2015;
Carga horária: 30 horas;
X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia e V Simpósio Plantas Mediciniais do Vale do São Francisco, Complexo Multieventos da UNIVASF, Juazeiro da Bahia-BA;
- Workshop em registro automático dos comportamentos de roedores expostos a labirintos;
Período: 15 de abril de 2014
Carga horária: 6 horas;
Auditório do Niate (CCB-CCS) da Universidade Federal de Pernambuco;

- Mesa redonda e Oficina: Plantas e ervas medicinais (Ministrante);
Seminário de Educação Popular em Saúde
Período: 08 e 09 de setembro de 2014
Carga horária: 24 horas;
Unidade Sesc Crato-CE
- Seminário de Educação Popular em Saúde
Período: 08 e 09 de setembro de 2014
Carga horária: 20 horas;
Unidade Sesc Crato-CE
- Minicurso: Conhecimento popular X Conhecimento científico na busca por novas possibilidades: Construção de quintais e hortas comunitárias (Ministrante);
I Semana do Meio Ambiente do IFE
Período: 02 de junho de 2015;
Instituto de Formação de Educadores da Universidade Federal do Cariri-Brejo Santo, CE.
- I Curso Ciência dos Animais de Laboratório
Período: 19 a 23 de maio de 2014
Carga horária: 20 horas;
Departamento de Ciências Farmacêuticas (CCS) da Universidade Federal de Pernambuco;
- Curso: Modelos pré-clínicos e Estado da Arte em Isquemia cerebral;
Período: 17 a 21 de fevereiro de 2014
Carga horária: 40 horas;
Departamento de Química Biológica e Departamento de Ciências biológicas da Universidade Regional do Cariri;
- Curso: Ação dos produtos naturais sobre o sistema nervoso
Período: 28 a 31 de julho de 2014
Carga horária: 40 horas;
Departamento de Química Biológica e Departamento de Ciências biológicas da Universidade Regional do Cariri;
- Conferência sobre introdução ao pensamento estatístico e ferramentas computacionais
Período: 11 a 16 de fevereiro de 2016
Carga horária: 40 horas;
Departamento de Química Biológica da Universidade Regional do Cariri;
- Minicurso: Estado da arte e pesquisa pré-clínica em processos inflamatórios envolvendo a biodiversidade vegetal e animal (Ministrante);
III Workshop sobre Etnobiologia e Conservação da Natureza & I Simpósio de Bioprospecção Molecular do Cariri;
Período: 27 a 29 de maio de 2015
Carga horária: 8 horas;
Universidade Regional do Cariri-CE;

- Oficina: Plantas medicinais: preparação de fitoterápicos; Uma homenagem ao prof. Francisco José de Abreu Matos, o grande idealizador do projeto de farmácias vivas (Ministrante);
III Workshop sobre Etnobiologia e Conservação da Natureza & I Simpósio de Bioprospecção Molecular do Cariri;
Período: 27 a 29 de maio de 2015
Carga horária: 8 horas;
Universidade Regional do Cariri-CE;
- III Workshop sobre Etnobiologia e Conservação da Natureza & I Simpósio de Bioprospecção Molecular do Cariri;
Período: 27 a 29 de maio de 2015
Carga horária: 30 horas;
Universidade Regional do Cariri-CE;
- Minicurso: Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais (Ministrante);
Período: 26 e 27 de outubro de 2017
Carga horária: 8 horas;
XX Semana de Iniciação Científica da Universidade Regional do Cariri-CE;
- Minicurso: Do laboratório para a sala de aula: práticas alternativas
Período: 02 a 06 de maio de 2017
Carga horária: 4 horas;
Reunião Regional da SBPC no Cariri na Universidade Regional do Cariri-CE;
- Minicurso: Saúde, meio ambiente e educação: práticas pedagógicas e questões transdisciplinares;
Período: 02 a 06 de maio de 2017
Carga horária: 4 horas;
Reunião Regional da SBPC no Cariri na Universidade Regional do Cariri-CE;
- Curso: Escrita de artigo científico;
Período: maio e junho de 2017;
Carga horária: 40h;
Auditorium, Juazeiro do Norte-CE;
- Palestra: O “poder” farmacológico das plantas medicinais (Ministrante);
III Encontro Cariense de Biomedicina
Novembro de 2016
Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, Juazeiro do Norte-CE.
- Minicurso: Modelos experimentais envolvidos no processo inflamatório (Ministrante);
Simpósio de Farmacologia
Novembro de 2016
Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, Juazeiro do Norte-CE.

**APÊNDICE B - ARTIGO PUBLICADO / SUBMISSÃO DE ARTIGO
CORRELACIONADO A TESE**

MARTINS, A. O. B. P. B et al. Anti-edematogenic and anti-inflammatory activity of the essential oil from *Croton rhamnifolioides* leaves and its major constituent 1, 8-cineole (eucalyptol). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 384-395, 2017.

Biomedicine & Pharmacotherapy 96 (2017) 384–395



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Biomedicine & Pharmacotherapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bioph



Original article

Anti-edematogenic and anti-inflammatory activity of the essential oil from *Croton rhamnifolioides* leaves and its major constituent 1,8-cineole (eucalyptol)



Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins^a, Lindaiane Bezerra Rodrigues^b,
Francisco Rafael Alves Santana Cesário^b, Maria Rayane Correia de Oliveira^b,
Cicera Datiane Moraes Tintino^b, Fyama Ferreira e Castro^b, Isabel Sousa Alcântara^b,
Maria Neyze Martins Fernandes^b, Thaís Rodrigues de Albuquerque^b,
Maria Sanadia Alexandre da Silva^b, Adriano Antunes de Sousa Araújo^d,
Lucindo José Quintans Júnior^d, José Galberto Martins da Costa^c,
Irwin Rose Alencar de Menezes^{b,*}, Almir Gonçalves Wanderley^{a,*}

^a Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Pré-Clinica de Produtos Bioativos (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, CEP: 50670-901, Recife, PE, Brazil

^b Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (LFQM), Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luis 1161, Pimenta, CEP 63105-000, Crato, Ceará, Brazil

^c Laboratório de Pesquisa e Produtos Naturais (LPPN), Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Rua Coronel Antônio Luis 1161, Pimenta, CEP 63105-000, Crato, Ceará, Brazil

^d Laboratório de Neurociências e Ensaios Farmacológicos (LANEF), Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Avenida Marechal Rondon, S/N, Rosa Elze, 49100-000, São Cristóvão, Sergipe, Brazil

MARTINS, A. O. B. P. B *et al.* Physical-chemical characterization and anti-inflammatory effect of the *Croton rhamnifolioides* essential oil inclusion complex in beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**. 2018.

• Your recent submission to INDCRO

Yahoo/Entrada ★



• **Industrial Crops and Products** <eesserver@eesmail.elsevier.com>



17 de jan às 15:52 ★

Para: anitaoliveira24@yahoo.com.br

Dear Dr. Anita Oliveira Pereira Bezerra Martins,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Industrial Crops and Products

Corresponding Author: Irwin Rose Alencar de Menezes

Co-Authors: [Anita Oliveira B Pereira Bezerra Martins](#), Msc; Almir G Wanderley, PhD; Lindaiane B Rodrigues, Msc; Francisco Rafael A Santana Cesário, PhD; Maria Rayane C de Oliveira, Msc; Cicera Datiane M Tintino, PhD; Fyama F e Castro, Msc; Isabel S Alcântara, Msc; Thaís R de Albuquerque, Msc; Maria Sanadia A da Silva, Msc; Henrique Douglas M Coutinho, PhD; Paula P Menezes, PhD; Lucindo J Quintans-Júnior, PhD; Adriano A Sousa Araújo, PhD;

Title: Physical-chemical characterization and anti-inflammatory effect of the *Croton rhamnifolioides* essential oil inclusion complex in <beta>-cyclodextrin

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at irwin_alencar@urca.br; irwinalencar@yahoo.com.br; do not follow the link below.

ANEXO A - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADE COM FINALIDADE CIENTÍFICA - INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 43795-1	Data de Emissão: 30/04/2014 08:22	Data para Revalidação*: 30/05/2015
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2007, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades e ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data de aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: ANITA OLIVEIRA BRITO PEREIRA BEZERRA MARTINS	CPF: 020.129.213-02
Título do Projeto: EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Croton sp.</i> NOS MODELOS DE ARTRITE INDUZIDA EM ANIMAIS	
Nome da Instituição: UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.489/0001-06

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (Mês/ano)	Fim (Mês/ano)
1	Período de Coleta	04/2014	03/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais de outros países estrangeiros, em todo o território nacional, e ao empregarem o deslocamento de recursos humanos e materiais, sendo por coleta, coleta de água, material, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes de cultura nativa e cultura popular, presente e passada, coletas por meio de <i>Myrmica</i> e <i>Formica</i> que se destinem ao estudo, a estudo ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO serve o pesquisador titular e os membros de sua equipe de acordo da necessidade de obter as análises previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), de unidade de conservação estatal, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou locatário do área dentro dos limites da unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para as fins previstas na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 102/2011, as que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas e retornar no âmbito do anexo superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não conseguida deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br/Servicos-on-line-Licença-para-importação-ou-exportação-de-flores-e-flores-CITEI-e-não-CITEI .
5	O titular de licença de autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura dedicados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e entregar anexo de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade da população do grupo taxonômico de interesse em condições <i>in situ</i> .
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da viagem de legislação vigente, ou quando da implementação, omissão ou falta de descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre o acesso e o componente do patrimônio genético colatado no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou do conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, inovação e desenvolvimento tecnológico. Para maiores informações em: www.mma.gov.br/gen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador para obter esta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		CE	ESTACIONAMENTO ECOLOGICA BR ALUMNA	UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de material biológico, líquido ou microbiológico	Cruza

Material e métodos

1	Armadilhas biológicas (Pitetas)	Canca, Nanas, Seneseta, Fozes, Pix, Falsopitetas
2	Método de captura/colheita (Pitetas)	Colata manual

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 83573695



Página 1/3

ANEXO B - IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E NÚMERO DE HERBÁRIO DA ESPÉCIE DE *Croton rhamnifolioides* PAX. & K. HOFFM



Herbário Cariense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

NÚMERO DE HERBÁRIO

Remetente:	Nº 17.2015			
HERBÁRIO CARIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA) Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br) Universidade Regional do Cariri - URCA Departamento de Ciências Biológicas Rua: Cel. Antonio Luiz, 1161 Campus do Pimenta - Crato - CE CEP: 63.105-100				
Destinatário:	Data: 13.04.2015			
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacéuticas – PPGCF Contato: Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra Martins Universidade Federal de Pernambuco				
Nº Amostram: 01	Tipo de Operação: Número de Herbário			
Nº HCDAL	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	Castigaliteira-branca; Quebra-saca-branca	Euphorbiaceae	<i>Croton rhamnifolioides</i> Pax & K. Hoffm.	Tiago Rodrigues Leite


 Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva
 Curadora do HCDAL

ANEXO C - DECLARAÇÃO DO CEUA



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COMISSÃO DE EXPERIMENTAÇÃO E USO DE ANIMAIS
Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta
Fones: (088) 3102.1291 / Fax: (088) 3102.1291
CEP 63105-000 – Crato - CE - Brasil
proppg@urca.br - www.urca.br/ceua



DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o projeto intitulado "EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO DO ÓLEO ESSENCIAL E COMPLEXO DE *Croton* sp. EM MODELOS EXPERIMENTAIS", Processo Nº 43/2015.1 foi **APROVADO** pela Comissão de experimentação e Uso de Animais – CEUA/URCA.

Marta Regina Kerntopf

Marta Regina Kerntopf

Vice-presidente do CEUA/URCA

CRATO-CE

2015